

UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1971

N° 6 U

THÈSE
de
DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'Université)

Pierre ARMOIRY
(pharmacien)

né le 11 Juillet 1944
à CAMBO-Les-BAINS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 9 JUILLET 1971

*Etude Biogalenique de l'influence
de certains facteurs technologiques
sur l'absorption de l'acide acétylsalicylique*

Président : M. FEBVRE, Professeur

Membres du Jury

M. DUCHENE-MARULLAZ, Professeur
M. ANDRAUD, Maître de Conférences Agrégé
M. AIACHE, Maître de Conférences Délégué

UNIVERSITÉ DE CLERMONT-FERRAND
FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1971

N° 6 U

THÈSE
de
DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'Université)

Pierre ARMOIRY
(pharmacien)

né le 11 Juillet 1944
à CAMBO-Les-BAINS

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 9 JUILLET 1971

*Etude Biogalenique de l'influence
de certains facteurs technologiques
sur l'absorption de l'acide acétylsalicylique*

Président : M. FEBVRE, Professeur

Membres du Jury

M. DUCHENE-MARULLAZ, Professeur
M. ANDRAUD, Maître de Conférences Agrégé
M. AIACHE, Maître de Conférences Délégué



UNIVERSITE DE CLERMONT

Président de l'Université : M. KOHLMULLER

Vice-Président : M. LEMOSSE

Secrétaire Général : Mme CHOPART

FACULTE DE PHARMACIE

(U.E.R. de Pharmacie)

Doyen : M. COULET

Vice-Doyen : Mme GAILLARD

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET

: M. VAURS

I - PROFESSEURS TITULAIRES

MM. BASTIDE	Chimie Biologique et Pharmacodynamie
BERGER	Chimie Analytique
CLUZEL	Bactériologie
COULET	Botanique et Microbiologie
DAUPHIN	Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
FEBVRE	Pharmacie Galénique
Mme GAILLARD	Physique Pharmaceutique
MM. POURRAT	Matière Médicale
TRONCHE	Pharmacie Chimique

II - PROFESSEURS SANS CHAIRE

Mle CHATONIER	Chimie Minérale et Minéralogie
Mme POURRAT	Matière Médicale

III - MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

MM. ANDRAUD	Toxicologie
COUQUELET	Pharmacie Chimique
Mme PETIT	Chimie Analytique

IV - DELEGUES DANS LES FONCTIONS DE MAITRES
DE CONFERENCES AGREGES

MM. AIACHE

Pharmacie Galénique

BOYER

Chimie Biologique

GUILLLOT

Botanique

Attaché Principal : M. BERTHON

Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de Thèse de Doctorat en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation (Délibération du 6 juin 1956).

A la mémoire de ma mère,

A mon père,

A ma femme et à ma fille,

A mes beaux-parents,

A toute ma famille et belle-famille,

A tous mes amis,

avec toute mon affection.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Monsieur le Professeur FEBVRE

Il nous a accueilli avec bienveillance dans son laboratoire, nous a confié le sujet de cette thèse et en a guidé la réalisation de ses conseils éclairés.

En témoignage de notre profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur DUCHÊNE-MARULLAZ

Professeur de Pharmacologie

Monsieur le Professeur Agrégé ANDRAUD

Professeur de Toxicologie

Monsieur AIACHE, Docteur en Pharmacie

Maître de Conférences délégué

Sa parfaite obligeance et ses profondes connaissances scientifiques nous ont apporté une aide immense dans l'élaboration de ce travail.

Nous les remercions d'avoir bien voulu juger ce travail avec leur haute compétence. Qu'ils veuillent trouver ici l'expression de notre vive gratitude.

A nos maître de la Faculté de Pharmacie de Clermont-Ferrand,

A tous nos amis du laboratoire de Pharmacie Galénique,

Que Monsieur DARBEAU, Pharmacien, soit remercié pour l'aide qu'il nous a si obligeamment apportée,

Que le Laboratoire de Physiologie de la Faculté de Médecine de Clermont-Ferrand soit remercié pour son aide technique,

Nous remercions également Monsieur CHATELUT, assistant à la Faculté de Pharmacie de Limoges, qui a bien voulu nous aider dans l'interprétation statistique des résultats.

Nous remercions les Laboratoires pharmaceutiques qui ont bien voulu nous soumettre leurs spécialités afin de les confronter à l'expérimentation.

La Société GATTEFOSSE s'est intéressée particulièrement à ce travail et en a suivi et facilité la réalisation. Nous l'en remercions vivement ici.

Pierre ARMOIRY

ETUDE BIOGALENIQUE DE L'INFLUENCE
DE CERTAINS FACTEURS TECHNOLOGIQUES
SUR L'ABSORPTION DE L'ACIDE ACETYLSALICYLIQUE

oOo

I N T R O D U C T I O N

Parmi les nombreuses disciplines intervenant lors de l'élaboration d'un médicament, l'une d'elles a subi ces dernières années une mutation particulière : il s'agit de la PHARMACIE GALENIQUE.

Définie comme l'art de préparer les médicaments sous une forme propre à être administrée au malade, elle fut longtemps considérée comme constituant un ensemble de procédés physiques destinés à conditionner, avec des excipients inertes, le principe actif, celui-ci étant la seule matière noble du médicament.

Avec le développement de techniques nouvelles de fabrication et l'utilisation d'excipients de plus en plus divers et complexes, le galéniste a dû évoluer en acquérant une science chimique et physique plus profonde. La Pharmacie Galénique s'est alors vue promue "Pharmacotechnie", terme plus scientifique, mais combien moins humaniste.

Aujourd'hui, le galéniste voit se poser un nouveau problème : le médicament préparé par lui est-il vraiment efficace, et l'est-il dans les meilleures conditions ?

En effet, le concept d'excipient utilisé comme simple véhicule ou diluant du principe actif a - d'après DEL POZO (54) - vécu. STEIGER (246) lui applique le qualificatif de "composant vivant du médicament" car, il peut, par sa nature, modifier profondément l'absorption, l'activité, voire même la toxicité du principe actif (54). Un nouveau concept apparaît alors, c'est celui exprimé par les anglo-saxons sous le terme de "physiological availability" (118) que l'on pourrait traduire par disponibilité physiologique ou thérapeutique.

Ce concept comprend une série de données que le galéniste moderne ne saurait ignorer :

- La connaissance du métabolisme et de l'absorption du principe actif pur en fonction de son état physique au moment de la préparation du médicament ;
- L'étude du devenir du principe actif dans l'organisme en fonction des excipients qui l'accompagnent dans la forme galénique ,
- L'étude, aussi précise que possible, de la libération à partir de cette forme.

Toutes ces données sont liées les unes aux autres. Les très nombreux travaux qui leur ont été consacrés ont montré que l'élément fondamental de la disponibilité physiologique d'un médicament est la formulation, avec, au tout premier plan, la prépondérance de l'effet qu'exerce l'excipient.

La Pharmacie Galénique apparaît alors sous un nouveau visage. C'est celui d'une science nouvelle qui étudiera les moyens techniques de préparation d'une forme à partir de laquelle le principe actif pourra exercer son action de façon optimum. L'efficacité de ces techniques étant contrôlée par un ensemble de moyens, notamment biologiques, qui constitueront une Biopharmacie : "Science qui étudie et systématise les relations existant entre la nature et l'intensité des effets des substances médicamenteuses et des facteurs tels que leur état physique, les conditions physico-chimiques au lieu de leur absorption, la composition de l'excipient, le type et le processus de fabrication de la forme pharmaceutique" (156 - 267).

Il s'agit-là d'un thème de recherches relativement récent, auquel de nombreux travaux se sont rattachés et auquel a également participé le Laboratoire de Pharmacie Galénique de la Faculté de Pharmacie de CLERMONT-FERRAND ; une conférence récente (5) a résumé les travaux effectués au Laboratoire.

Nous nous sommes donc attachés dans ce travail à tenter de définir quelques uns des facteurs technologiques agissant sur l'absorption d'un principe actif pur et englobé dans une forme galénique, ainsi que les moyens d'étude permettant d'évaluer l'effet de ces facteurs.

Ce travail se compose de quatre parties :

- Trois parties bibliographiques :
 - . Une première partie destinée à l'étude des facteurs influençant l'absorption d'un médicament ;
 - . Une deuxième partie étudiant les moyens permettant d'évaluer l'effet des facteurs technologiques sur la disponibilité du principe actif ;
 - . Une troisième partie résumant le métabolisme de l'acide acétylsalicylique que nous avons utilisé comme traceur.
- La quatrième partie sera consacrée à notre recherche personnelle.

Nous avons tenté d'illustrer l'importance que revêt la connaissance des facteurs technologiques agissant sur l'absorption d'un médicament en l'appliquant au cas de l'acide acétylsalicylique. A cet effet, nous avons divisé cette partie de la façon suivante :

- Un premier chapitre définissant le protocole expérimental que nous avons utilisé ;
- Un deuxième chapitre étudiant l'influence de la granulométrie sur l'absorption de l'acide acétylsalicylique ;
- Un troisième chapitre consacré à l'influence qu'exercent, sur l'absorption, des enrobages utilisés pour soustraire la muqueuse gastrique à l'agression due au contact direct avec l'aspirine ;
- Un quatrième chapitre dans lequel sera étudiée l'importance de l'absorption dans le cas de l'aspirine dite soluble ;
- Un cinquième chapitre où sera précisée la décroissance de la concentration sanguine en salicylés après administration par voie intra veineuse.

P R E M I E R E P A R T I E

FACTEURS INFLUENCANT L'ABSORPTION D'UN MEDICAMENT

On définit sous le terme d'absorption le passage d'une substance à travers les barrières constituées par la peau, les muqueuses ou l'épithélium gastro-intestinal et aboutissant dans le sang et la lymphe.

Ainsi, l'absorption d'un médicament sera le processus par lequel un principe actif pourra atteindre le sang ou la lymphe qui le véhiculeront dans les tissus afin de lui permettre d'exercer son action thérapeutique. La diffusion dans ces tissus sera la résorption.

L'intensité du phénomène d'absorption dépend de la nature du principe actif, des modifications que l'on aura pu lui faire subir et surtout de la forme pharmaceutique dans laquelle il est inclus.

Nous étudierons donc dans un premier chapitre l'absorption d'un principe actif pur, et dans un deuxième chapitre l'absorption d'un médicament terminé, comprenant le principe actif accompagné d'excipients indispensables dans la forme galénique.

CHAPITRE I

=====

ABSORPTION DU PRINCIPE ACTIF PUR

Dans ce chapitre seront étudiés, successivement, dans un premier stade, l'influence de facteurs dépendant de l'organisme :

- Importance des barrières physiologiques,
- Mécanisme d'absorption d'un médicament administré par voie orale,
- Facteurs physiologiques intervenant au site de l'absorption gastro intestinale,

et dans un deuxième stade, l'influence de facteurs dépendant du principe actif par lui-même et l'influence des modifications physico-chimiques que l'on aura pu lui faire subir.

1°/ FACTEURS DEPENDANT DE L'ORGANISME

1-1 Les barrières physiologiques :

L'absorption d'un produit dépendra avant tout de sa voie d'administration. Selon le lieu d'introduction dans l'organisme, un principe actif aura à franchir des barrières d'importance variée. Ces barrières sont nulles dans le cas d'une administration par voie intra-veineuse, constituées simplement par l'épithélium des capillaires dans le cas d'une administration par voie sous-cutanée ou intra-musculaire, et beaucoup plus importantes par toute autre voie.

Le tableau I, emprunté à BOWMANN et Coll. (24) résume les différentes voies d'administrations avec les formes galéniques utilisées et les différentes membranes absorbantes que devra franchir le principe actif avant d'exercer son effet.

TABLEAU N° I - Voies et modes d'administration des médicaments (D'après 24)

Voie d'administration	Type de membrane absorbante	Type de préparation
Buccale	Muqueuses du tractus gastro-intestinal	Mélanges (Suspensions-solutions) Pilules-comprimés-cachets-capsules, etc. . .
Sublinguale	Muqueuse	Comprimés
Rectale	Muqueuse	Suppositoires-pommade
Intestinale (côlon)	Muqueuse	Lavements
Urétrale	Muqueuse	Bougies
Vaginale	Muqueuse	Ovules-comprimés gynécologiques
Nasale	Muqueuse	Gouttes et poudres nasales
Par inhalation	Muqueuse du tractus respiratoire Epithélium des alvéoles	Aérosols - inhalation Vapeurs - gaz - fumées
Conjonctivale	Muqueuse conjonctivale et épithélium de la cornée	Collyres - lotions - pommades
Epidermique	Epithélium kératinisé	Pommades - lotions - crèmes - liniments poudres - pâtes
Parentérale S-C - I-M	Endothélium des capillaires vasculaires et lymphatiques	Solutions et suspensions. Implants
I-V - I-A	Aucune	Solutions

1-2 Mécanisme de l'absorption :

Quatre mécanismes peuvent régler l'absorption d'un médicament administré par la voie orale (24 - 98 - 226) :

Diffusion lipidique passive :

Le produit passe de la phase aqueuse du lumen gastro intestinal dans la phase lipidique constituée par l'épithélium, en fonction de son gradient de concentration. Selon la loi de FICK, le produit diffuse avec une vitesse dv/dt directement proportionnelle :

- A la surface S de la membrane absorbante,
- A la différence de concentration dc entre les deux côtés de la membrane,

et inversement proportionnelle : à l'épaisseur de la membrane dx .

$$dv/dt = - D.S. dc/dx$$

- . D est une constante de proportionalité qui représente le coefficient de diffusion du produit ;
- . dc/dx représente le gradient de concentration du produit à travers la membrane absorbante.

Diffusion aqueuse :

Les petites molécules de masse molaire inférieure à 200 ou bien les molécules solubles dans l'eau mettent à profit des interruptions du film lipidique constituant la membrane cellulaire pour traverser l'épithélium par filtration (98). Le diamètre des pores n'excède pas 4 angströem pour l'épithélium gastro intestinal (24). L'intensité de ce phénomène est fonction de l'état d'équilibre de la pression hydrostatique et osmotique de part et d'autre de la membrane (24).

Transport actif :

Ce phénomène diffère des précédents par sa sélectivité. En effet, seuls les principes actifs de configuration voisine des substances physiologiques seront absorbés selon ce mécanisme. Le gradient de concentration

n'intervient pas. Le produit se trouve lié de façon provisoire à un acide aminé servant d'agent transporteur. Cette liaison affecte certains ions organiques et certaines molécules polaires ainsi que des sucres, des acides aminés ou des pyrimidines utilisés à des fins thérapeutiques. L'énergie requise pour la formation de cette liaison et le travail de transport actif, semblerait être fournie par le système A.T.P.-A.D.P. (226). Une autre forme de transport actif (dite diffusion facilitée) définit un phénomène ne pouvant agir à contre-courant du gradient de concentration et ne nécessitant pas d'apport d'énergie pour sa mise en oeuvre. Il se formerait un complexe entre le produit et un agent transporteur d'un côté de la membrane ; ce complexe se scindant de l'autre côté de la membrane, l'agent de transport se trouverait alors libéré. Ainsi, certains ammoniums quaternaires se lieraient à des récepteurs constitués par les phosphatides peptidiques existants au niveau des muqueuses gastro-intestinales pour donner naissance à un complexe liposoluble absorbé par diffusion lipidique (226).

Pinocytose :

Les médicaments de haut poids moléculaire ou existant sous forme de micelles seraient absorbés par les cellules de la muqueuse par un processus analogue à la phagocytose. Ce phénomène est peu important dans l'absorption au niveau du tractus gastro-intestinal.

1-3 Les facteurs physiologiques :

Ces facteurs sont de deux ordres :

Facteurs dépendant de la muqueuse :

L'épithélium absorbant étant de nature lipidique, un grand nombre de substances seront absorbées par lipo-solubilisation. La surface de l'épithélium interviendra directement sur l'importance de l'absorption.

Le pH régnant à la superficie de l'épithélium, l'existence d'un film muqueux ou séreux, ainsi que l'irrigation sanguine de la muqueuse, jouent un grand rôle dans l'absorption (24 - 98 - 181 - 221). Les mouvements péristaltiques, en renouvelant la surface de contact entre médicament et muqueuse joueront un rôle favorable sur le passage du médicament (181 - 221).

Facteurs dépendant du milieu gastro-intestinal :

Le pH du milieu conditionnera la solubilité du produit en fonction de son degré d'ionisation qui favorisera ou abaissera sa diffusion lipidique (24 - 35 - 98 - 181 - 221 - 226 - 260).

La viscosité pourra intervenir en faisant varier la répartition uniforme du principe actif dans son site d'absorption (4 - 8), ou la désagrégation des comprimés (203).

Il ne faut pas oublier que la présence d'aliments peut modifier aussi l'absorption du produit :

- Soit par action directe en l'enrobage,
- Soit indirectement en modifiant les conditions de pH, viscosité, péristaltisme, etc... (165 - 181 - 221 - 226).

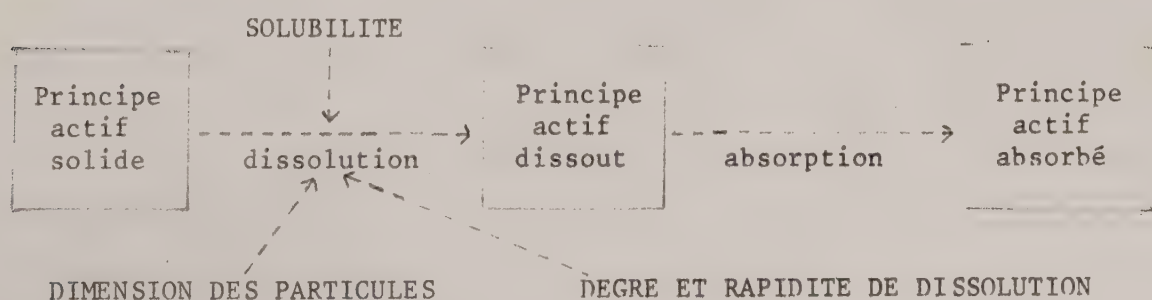
Le péristaltisme, enfin, peut, s'il devient trop important, diminuer l'absorption en augmentant de façon exagérée la rapidité du transit.

A ces divers facteurs, il convient d'ajouter, selon POLAND (221), l'influence d'agents complexants telle la mucine et la présence d'agents émulsionnants et dissolvants telle que la bile.

On ne peut conclure ce paragraphe sans mentionner le phénomène de vidange gastrique intervenant en faisant passer le produit plus ou moins rapidement dans l'intestin où son absorption est plus grande (98 - 260).

2°/ FACTEURS DEPENDANT DU PRINCIPE ACTIF PUR

Le processus d'absorption d'un principe actif solide administré par la voie orale (comprimé, capsule ou suspension) ou par la voie intramusculaire (pellet ou suspension) peut être schématisé de la façon suivante (91) :



D'après ce schéma, on voit qu'un principe actif ne peut être absorbé que s'il est dissout. La solubilisation constituera donc une étape fondamentale ; dans la plupart des cas, cette étape est la plus lente ou celle qui risque de ralentir le plus la vitesse d'absorption : la dissolution est considérée comme le "facteur-clé" de l'absorption (242).

Dans ces conditions, tous les facteurs influençant la solubilité influenceront la vitesse et le degré d'absorption.

Il est classique de dire que les substances insolubles sont pharmacologiquement inertes. Ce fait est illustré par l'exemple du sulfate de baryum qui peut être administré sans danger avant un examen aux rayons X, alors que les autres sels de baryum solubles se révéleraient hautement toxiques.

De nombreux travaux mettent en évidence l'importance de l'hydrosolubilité dans l'activité d'un médicament. C'est ainsi que l'on a pu voir que l'absorption des sels des substances suivantes était plus importante que celle des bases ou des acides correspondants :

- Phénoxyéthyl pénicilline (Pénicilline V) (119)
- Benzyl pénicillinate de sodium (Pénicilline G) (12)
- Tolbutamide (197 - 199)
- Barbituriques (6 - 131 - 188 - 229 - 241)
- Acide nalidixique (188)
- Vitamines hydrosolubles (Aneurine, riboflavine, pyridoxine, cyanocobalamine) (227)
- Sulfamides (52)
- Quinine et ses sels (103 - 277)

Il convient de signaler que, pour un même produit, les divers sels que l'on pourra obtenir avec lui seront plus ou moins facilement hydrosolubles. Ces différences d'hydrosolubilité se traduiront par des différences dans l'absorption. Ainsi, le chlorhydrate de quinine très facilement soluble est mieux absorbé que le sulfate pourtant soluble lui aussi (103). C'est également le cas du salicylate de soude plus vite absorbé que le salicylate de calcium, ces deux sels sont pourtant tous deux parfaitement solubles (200 - 201).

Mais, il est d'autres cas où l'hydrosolubilité n'intervient pas. Par exemple, l'administration rectale d'atropine base provoque le même effet mydriatique que son sulfate (146 - 198) ; la liposolubilité a joué, ici, un rôle équivalent à l'hydrosolubilité en favorisant l'absorption de la base par liposolubilisation.

D'autre part, l'absorption de la plupart des médicaments se fait par diffusion lipidique.

Ces deux constatations nous amènent à considérer l'importance que revêt la connaissance de la liposolubilité du produit et par conséquent l'évaluation du coefficient de partage huile/eau.

Ce coefficient est sous la dépendance du degré d'ionisation exprimé par la constante d'ionisation de la substance (24). Ce paramètre est plus commodément exprimé par le pK_a du produit.

Lorsque le pK est égal au pH de la phase aqueuse à la surface d'une membrane lipidique, le nombre de molécules ionisées et non ionisées est égal. Si le pH s'élève, les médicaments acides se trouvent plus ionisés et par conséquent plus hydrosolubles et les médicaments basiques se trouvent sous forme moins ionisée et par conséquent plus liposolubles. Un abaissement du pH provoque le phénomène inverse.

La structure cristalline du produit aura également une grande influence sur la solubilité de nombreux corps existant sous forme polymorphe, l'une des formes sera plus soluble (105 - 221 - 242). Ces formes sont, en général, les moins stables et les plus proches de l'état amorphe.

De plus, ROLAND a montré de façon très claire que la dissolution d'un cristal est beaucoup plus importante si sa structure est altérée par dislocation ou clivage et si, au sein du cristal se trouvent quelques traces d'impuretés venant rompre par la présence d'atomes étrangers la régularité de l'architecture cristalline.

Le phénomène de solvation peut jouer aussi un rôle important : lors de la formation du cristal, des molécules d'eau ou de solvant peuvent se combiner au produit donnant ainsi des solvates cristallisés présentant une plus grande solubilité que la forme anhydre (221). Il faut noter que, selon SCHEFTER et HIGUCHI, pour un certain nombre de produits, les hydrates

sont moins solubles que la forme anhydre alors que les solvates sont plus solubles (233).

La solubilité permet à un médicament d'être absorbé à différents niveaux de l'organisme, mais il faut tenir compte, également, de la vitesse de dissolution dans le milieu interne (54 - 148 - 168 - 194 - 242).

De nombreux travaux ont montré les corrélations existant entre vitesse de dissolution in vitro et vitesse d'absorption in vivo en particulier avec des dérivés salicylés tels le salicylamide (168) et l'aspirine (147 - 148 - 258 - 260 - 269) ou bien avec la tétracycline, le tolbutamide, la spironolactone, la prednisone, la méthyl prednisolone, l'ampiciline, la griséofulvine, la sulfaméthazine (272).

LEVY a ainsi montré que la dissolution et l'absorption de l'aspirine se font selon deux équations exponentielles de pseudo premier ordre, qu'il existe une corrélation entre les deux phénomènes et que l'absorption de l'aspirine est d'autant plus ralentie que la dissolution du produit est lente (147).

3°/ FACTEURS DEPENDANT DES MODIFICATIONS QUE L'ON PEUT FAIRE SUBIR AU PRINCIPE ACTIF

Ces modifications portent essentiellement sur l'augmentation de la solubilité du produit et par là sur la vitesse de dissolution dans les milieux physiologiques. Deux types de procédés peuvent être mis en oeuvre dans ce but :

3-1 Procédés chimiques :

Ainsi que nous l'avons vu précédemment, une base ou un acide est moins hydrosoluble que ses sels (218). La salification pourra être effectuée dans le but d'augmenter l'absorption du produit, mais, dans ce cas, l'agent neutralisant aura une grande influence ; c'est ainsi que les chlorures sont plus solubles que les autres sels ; il en est de même pour les sels de sodium (221).

On pourra également estérifier un acide avec un alcool, ou bien faire agir un acide aminé ou une amine afin d'obtenir un amide. Les

substituants utilisés ici auront une grande influence et, dans le cas où l'on désirera augmenter l'hydrosolubilité, on aura intérêt à utiliser des composés à chaîne courte ou porteurs de groupements hydrophiles (hydroxyles par exemple).

Dans le même but, on peut faire subir à une molécule insoluble une copule solubilisante qui, sans changer l'effet pharmacodynamique du principe actif influencera favorablement sa solubilité. C'est ainsi que, si l'on greffe un groupement sulfonate sur une molécule, sa solubilité s'en trouve grandement augmentée.

A l'inverse, on pourra greffer des éléments qui, par encombrement stérique ou par action hydrophobe, pourront conduire à des produits à solubilisation lente et effet retardé.

3-2 Procédés physiques :

3-2-1 Modifications de la structure cristalline

Ainsi que nous l'avons déjà signalé, les médicaments chimiques présentent un polymorphisme s'accompagnant de différences de solubilité. La recherche et l'utilisation d'une forme amorphe plus soluble peut être effectuée (221 - 242). Mais l'activité thermodynamique de ces formes est élevée et elles évoluent plus ou moins rapidement vers un état stable cristallin ; de plus, ces formes ont une plus grande réactivité chimique que les formes stables. Ainsi, se trouvent posés d'importants problèmes de stabilité (221-242).

Par ailleurs, on pourra chercher à provoquer le phénomène de solvatation, ou bien créer des irrégularités de structure par la pression ou le choc mécanique ou thermique.

3-2-2 Influence de la dimension des particules

La vitesse de solubilisation d'un produit quelconque est donnée par la relation de NOYES-WHITNEY (204) dans laquelle on voit que cette vitesse est proportionnelle à la surface de contact entre solvant et soluté, et à la différence entre concentration au temps t et concentration de saturation dans le milieu de dissolution :

$$\frac{dq}{dt} = k \cdot S (C_s - C_t)$$

- . k est une constante assimilée au taux de dissolution
- . La surface S est assimilable à celle des particules

Cette surface augmente avec l'état de division du solide. Classiquement, il est connu que l'augmentation de la surface spécifique accélère la dissolution d'une substance (79 - 117 - 124 - 135 - 157 - 212 - 218 - 221 - 226 - 242 - 248).

On aura donc intérêt à présenter les substances dont la solubilité est faible sous forme de particules fines. Celles-ci peuvent être obtenues par broyage, pulvérisation ou micronisation. Ceci aura pour conséquence une résorption plus complète et rapide avec une réponse pharmacologique plus intense (130).

Ces faits ont été vérifiés pour différents produits :

- Griséofulvine (9-10-42-62-117-123-124-129-130-183)
- Spironolactone (17)
- Chloramphénicol (121)
- Sulfamides (25-117-120-196-216)
- Phénacétine (212)
- Aspirine (248)

Le cas de la griséofulvine est particulièrement significatif : le produit ayant été utilisé initialement sous une granulométrie conventionnelle, il en résulta un certain nombre d'échecs thérapeutiques. Puis, lorsque ATKINSON et Coll. (9) montrèrent que des particules mesurant 0,8 microns étaient bien absorbées, on utilisa une griséofulvine micronisée, ce qui permit d'obtenir de meilleurs résultats dus à une résorption plus complète (117).

Ainsi, la modification de l'interface liquide/médicament nous apporte un grand bénéfice dans l'efficacité thérapeutique d'un produit. Mais, il convient de prendre garde à certains aspects négatifs ainsi que nous le dit LAFONTAINE (135).

Nous allons énumérer ces points rapidement :

- Un produit plus finement divisé est plus facilement vulnérable aux agents extérieurs, mais aussi aux liquides organiques : c'est le cas de l'érythromycine et de la pénicilline qui sont instables en milieu gastrique ;
- Un médicament trop divisé peut franchir parfois la barrière intestinale sous forme particulaire : c'est le cas du sulfate de baryum qui, trop finement divisé, provoque l'apparition de granulomes ;
- Une division trop poussée peut diminuer l'action d'un médicament destiné à agir au niveau de la portion inférieure de l'intestin ; on risque, en effet, de voir la résorption au niveau de l'estomac, du duodénum, du jejunum ou de l'iléon, éliminer une partie importante de la substance qui arrive en quantité trop faible au niveau du site où elle doit agir. C'est le cas, notamment, pour la phénothiazine qui, appelée à agir comme anthelminthique au niveau du gros intestin doit être administrée sous forme de grosses particules (99 - 126 - 148). Les grosses particules pourront être utilisées soit pour traiter localement le gros intestin, soit pour obtenir une libération prolongée du médicament ;
- Une poudre trop fine risque de mal se solubiliser par suite d'une mauvaise mouillabilité due à la présence d'air entre les particules, de même, chaque fois que l'absorption d'un médicament n'est pas fonction uniquement de sa vitesse de dissolution, la diminution du diamètre des particules n'interviendra pas (c'est le cas des bases faibles qui sont facilement solubles dans l'estomac mais ne sont absorbées qu'au niveau de l'intestin). L'exemple du chlorhydrate de tétracycline illustre bien ce fait (157) : ce produit, administré sous forme de particules mesurant 100 microns n'est pas mieux absorbé sous cette forme que sous celle de pellet mesurant 0,95 mm de diamètre.

CHAPITRE II

=====

INFLUENCE DE LA FORME GALENIQUE

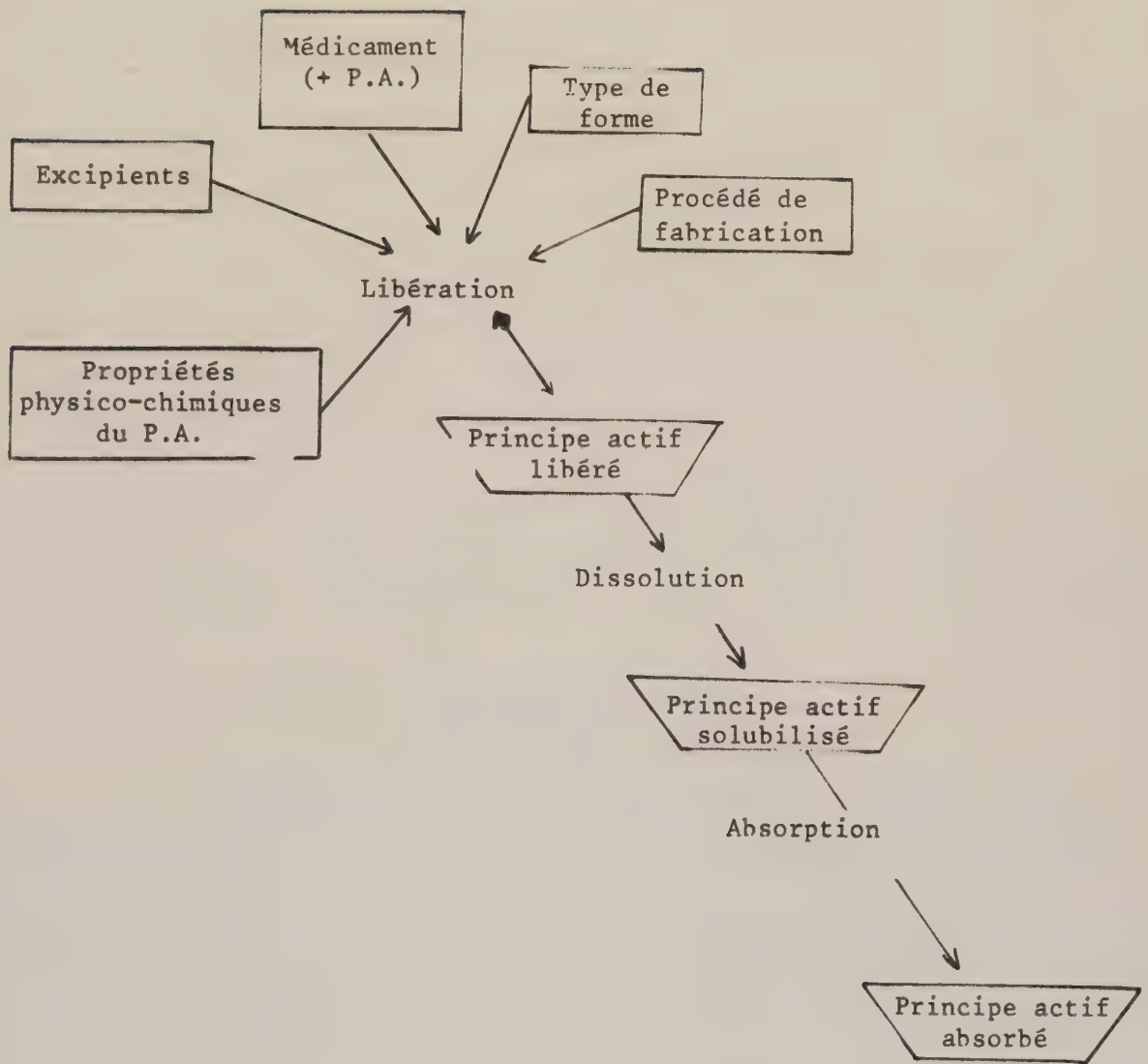
Toute forme galénique comprend un principe actif et des excipients. Ceux-ci sont utilisés afin de permettre la fabrication du médicament et sa prise par le malade. Mais, l'excipient ne joue pas le seul rôle d'accompagnateur et toutes les modifications que l'on aura pu faire subir au principe actif seront vaines si celui-ci ne peut se dégager de la forme médicamenteuse dans laquelle il se trouve inclus.

L'excipient est donc appelé à jouer un rôle fondamental dans l'absorption du médicament, cette influence se manifeste sur deux points :

- La libération du principe actif,
- La dissolution du principe actif.

Le schéma de l'absorption du médicament devra donc s'écrire de la façon suivante (18) :

.....



Nous étudierons, dans ce chapitre, l'influence qu'exerce la forme galénique sur la dissolution du principe actif et sur sa libération.

1°/ INFLUENCE SUR LA SOLUBILISATION

Cette influence se manifeste principalement par une modification de l'interface liquide/solide.

1-1 Division du principe actif :

L'influence de la granulométrie a déjà été vue ; cependant deux points sont à considérer du point de vue galénique.

Le premier se rapporte à la définition de la granulométrie d'une poudre et à l'appareillage de choix susceptible de la déterminer de façon précise et reproductible. Un colloque récent a fait le point de la question (61 -126 - 195).

Le deuxième se rapporte à l'utilisation des poudres micronisées ; divers travaux ont montré que ces poudres pouvaient perdre tout ou partie de leurs propriétés après compression (17 - 121 - 145 - 153 - 154 - 155).

1-2 Influence de l'apport d'adjuvants :

+ Certains procédés permettent d'obtenir la formation de fines particules in vivo. C'est ainsi que des sels d'acides faibles sont dissous dans l'eau ou dans un solvant organique miscible à l'eau (glycérine ou éthanol). Ces solutions administrées par voie orale sont diluées par le liquide gastrique et le principe actif précipite sous forme de fines particules aisément dispersées dans l'estomac.

On a également montré que des mélanges eutectiques d'un médicament et d'un adjuvant inerte facilement soluble donnent des dispersions de particules extrêmement fines du produit actif par dissolution au niveau du tractus gastro-intestinal ; c'est le cas notamment de mélange sulfothiazolurée (236), chloramphénicol-urée (237) ou griséofulvine-acide succinique.

Par ailleurs, d'autres travaux (96 - 97 - 184) ont montré qu'il était préférable d'avoir une solution solide plutôt que de simples mélanges

eutectiques, le médicament insoluble étant dissous dans un excipient soluble (242).

+ La solubilité d'un médicament peut également être modifiée par addition de tensio-actifs (191 - 192 - 251). Mais ces modifications ne vont pas toutes dans le sens d'une amélioration ainsi qu'en font foi de nombreuses publications. Le tableau II résume quelques-uns de ces travaux parmi les plus représentatifs avec les résultats obtenus.

Selon GIBALDI (92), les tensio-actifs agiraient suivant les mécanismes ci-dessous :

- Réduction de l'angle de contact entre solide et liquide, ce qui entraîne une modification de l'humectation du solide dans le sens d'un contact plus étroit entre solvant et soluté (87 - 89 - 122 - 128 - 217) ;
- Ralentissement de la vidange gastrique et du transit gastro-intestinal, dû à une augmentation de la viscosité des sucs digestifs, ce qui améliorerait l'absorption du produit grâce à son transit plus lent (206). Mais, comme nous l'avons déjà vu, une trop grande viscosité est un facteur diminuant cette résorption (165) ;
- Diminution du péristaltisme intestinal par action directe sur la muqueuse (174 - 185 - 193) ;
- Formation, avec le principe actif, d'un complexe qui est absorbé plus lentement ou qui ne peut passer à travers les membranes (en fonction de la concentration en tensio-actifs et en substance active) (54 - 92 - 122 - 162 - 182 - 217) ;
- Modification de la perméabilité des membranes cellulaires pouvant se faire de deux façons :
 - . Par effet mouillant et solubilisant de la membrane lipidique (250),
 - . Par altération directe des membranes (65 - 92 - 202 - 254).

Signalons, enfin, que les sucs digestifs contiennent également des tensio-actifs physiologiques (80 - 92), formés de sels biliaires conjugués ou d'isolecithine dont l'intérêt ne doit pas échapper au formulateur (32).

TABLEAU II - Rôle de certains tensio-actifs sur l'absorption des médicaments

Substance étudiée	Tensio-actif utilisé	Sujet d'expérience	Absorption	Réf.
Cholestérol	Tween 80	Lapin (orale)	↗	125
Vitamine A	Lauryl-Sulfate de Na	Homme	↗	87
G. Strophantine	Lauryl-Sulfate de Na	Chien (etc...)	↗	128
Spironolactone	Tween 80	Divers (orale)	↗	89
Sulfisoxazole	Tween 80 Tween 80	Rat (rectale) Rat (intestinale)	↗ et ↘	182-122
Iodure de Na	Tween 80 Lauryl-Sulfate de Na	Rat (rectale)	↗	217
Iodoforme Triiodophénol	Tween 80 Lauryl-Sulfate de Na	Rat (rectale)	↘	217
4 Amino-Antipyrine	Tween 80	Poisson	↗	7
Barbituriques	Tween 80 Acide oléique	Poisson	↗	169-171 172
Salicylés 4 Amino-Antipyrine	Tween 80 Acide oléique	Rat (intestinale)	0	170
Acide salicylique Ethanol	Tween 60 Tween 60	Rat Rat	↘ 0	162
Héparine	Lauryl-Sulfate de Na D-O-S-S G 3300	Rat	↗	65
Graisses	Tween 80	Rat (orale)	↗	27
Glucose	Lauryl-Sulfate de Na	Lapin	↗	127

2°/ LIBERATION DU PRINCIPE ACTIF

Compte-tenu des propriétés physico-chimiques du principe actif et des modifications que l'on aura pu lui faire subir, la libération sera fonction, essentiellement :

- Du type de forme utilisé,
- Des excipients qui l'accompagnent.

Nous envisagerons les facteurs susceptibles d'influencer la libération du principe actif à partir des formes que nous avons utilisées lors de notre expérimentation, c'est-à-dire les gélules et les comprimés.

2-1 Libération à partir de gélules :

Les médicaments administrés sous forme de gélules sont généralement purs. Il est parfois indispensable de leur faire subir une granulation ou de les additionner de lubrifiants afin de faciliter le remplissage de la gélule. C'est pourquoi, à cette exception près, la libération du principe actif dépendra uniquement de la composition de la gélule et de sa fabrication (31). Il convient, cependant, de noter que la pénétration de l'eau à l'intérieur de la gélule est facilitée lorsque son contenu est hydrosoluble ou hydrophile (225).

Les gélules couramment utilisées sont composées uniquement de gélatine ; on leur adjoint, parfois, de l'oxyde de titane afin de les rendre opaques.

La délitescence a lieu quel que soit le pH du milieu (107 -180) ; elle se fait par gonflement, dissolution et rupture des deux extrémités de la gélule par tension. Le temps moyen de délitement d'une gélule est indépendant de la grosseur de celle-ci (47 - 48).

Pourtant, d'autres travaux ont montré qu'il existait des différences significatives entre les salicylémies obtenues après administration d'aspirine en gélules n° 3 et n° 4 (180). Ces travaux s'accordent cependant tous à estimer que le délitement de la gélule est très rapide et que la libération du principe actif à partir de cette forme n'est pas un facteur susceptible de ralentir de manière perceptible l'absorption d'un médicament.

2-2 Libération à partir de comprimés :

Dans un comprimé, le principe actif se trouve en contact avec de nombreux excipients et adjuvants dont les influences sur sa libération seront diverses. D'autre part, les modes de fabrication seront variés et ils interviendront sur la mise du produit à la disposition de l'organisme.

La libération du produit actif se déroulera en deux stades : désagrégation du comprimé et solubilisation du produit.

2-2-1 PREMIER STADE : la désagrégation ou délitement :

Le délitement doit se faire dans un temps convenable dans le tractus gastro-intestinal (238). De plus, le résultat le plus souhaitable est la désagrégation du comprimé en fines particules colloïdales susceptibles de libérer au mieux le principe actif (219). Divers facteurs influenceront le temps et l'aspect morphologique de ce délitement. Selon WARD (274), il en existe au moins DIX :

- La formule de base servant la préparation du granulé,
- Le degré de compression,
- Le poids, la taille, la forme et la dureté des comprimés,
- La dimension des particules,
- Le type de machine utilisé dans la compression,
- La conservation,
- La méthode utilisée pour déterminer le temps de délitement,
- Le taux d'humidité du granulé,
- La dimension des grains,
- La taille des particules du désintégrant.

Nous allons étudier quelques-uns de ces facteurs :

La formule de base -

Elle comprend : principe actif et excipients ; la solubilité du principe actif peut jouer un rôle dans sa libération (19 - 20 - 81 - 132 - 207 - 214 - 238), car, en l'absence de tout désintégrant, elle constitue l'élément prépondérant dans la désintégration du comprimé (214). Examinons, à présent, le rôle des excipients.

. Les liants : l'amidon (154), les carboxyméthyl cellulose (113 - 115), le polyvinyl pyrrolidone (114 - 219), certains corps gras comme le Précirol[®], accroissent le temps de délitement.

. Les lubrifiants : s'ils sont hydrophobes (133) comme le stéarate de magnésie, le talc (155) ou l'acide stéarique, ils prolongent le temps de délitement. S'ils sont hydrophiles, tels l'oléate de sodium ou le lauryl sulfate de sodium, ils le diminuent en facilitant la pénétration de l'eau à l'intérieur du comprimé (125). Le tween 80 agit dans le même sens et le DQSS, semble sans effet (203 - 237).

. Les désintégrants : ils influencent de grande façon le temps de délitement, et selon leur action, on peut les classer en trois catégories (238) :

- Désintégrants diminuant le temps de désagrégation : amidon, méthyl cellulose, silice colloïdale, alginate de calcium (21 - 104 - 153),
- Désintégrants augmentant fortement le temps de désagrégation : carboxyméthyl cellulose, alginate de soude,
- Désintégrant augmentant le temps de désagrégation dans une faible proportion : éthyl cellulose (238).

Cette influence serait explicable d'après SERRANO (238), par leur pouvoir d'absorption de l'humidité.

Caractéristiques techniques des comprimés -

La taille, la forme et la dureté peuvent modifier profondément le temps de délitement. La dureté présente un intérêt particulier par le fait qu'elle fait varier considérablement la porosité du comprimé fini (55 - 113 - 116 - 154).

Le type de la machine utilisée -

Au cours de la compression, il joue également un rôle : les vibrations des rotatives pouvant entraîner des modifications de poids et de dureté (64).

La conservation -

Le vieillissement naturel ou accéléré de comprimés obtenus à partir de produits solubles ou insolubles augmente le temps de délitement (207 - 213).

Il est bien évident que, si les facteurs énumérés par WARD agissent individuellement (133) c'est plutôt de leur effet combiné que dépendra la désagrégation in vivo du comprimé et la mise à la disposition du principe actif de l'organisme.

2-2-2 DEUXIEME STADE : dissolution du principe actif :

Comme nous l'avons déjà vu, ce stade dépend de la solubilité du produit pur et peut être modifié par les procédés que nous avons signalés. Cependant, deux cas sont à envisager de plus près :

- Le cas où l'on désire une dissolution très rapide de manière à obtenir une solution extemporanée qui sera bue par le malade : c'est le cas des comprimés effervescents ;
- Le cas où l'on désire contrôler et retarder la dissolution de manière à prolonger l'action du produit : c'est le cas des formes dites "retard".

Les comprimés effervescents -

Une belle définition des comprimés effervescents a été donnée par BARNERIAS : les comprimés effervescents représentent une incompatibilité dont on est venu à bout (14).

En fait, ces comprimés représentent une réaction chimique potentielle entre un acide et un carbonate ; cette réaction se déclenche dès qu'il y a présence d'eau.

Le terme de "effervescence" doit être une solution limpide dans laquelle le principe actif doit être solubilisé. Cette notion entraîne l'obligation de préparer un comprimé dont tous les composants soient solubles par eux-mêmes ou bien solubilisés lors de l'effervescence ; d'où la grande importance que l'on attachera à la formulation de telles formes.

L'excipient est formé d'un acide pharmacologiquement inerte et d'un carbonate entrant en réaction avec dégagement de gaz carbonique.

Les acides :

On utilise l'acide citrique monohydraté ou anhydre qui présente le grand inconvénient d'être très hygroscopique, l'acide tartrique ou l'acide fumarique.

On emploie, également, des sels acides. Ces sels pourront être les mono sels des acides précédents ou des sels minéraux tels le phosphate monosodique, le bisulfite de sodium et le bisulfite de potassium.

Signalons que le principe actif peut agir en tant qu'effervescent acide de la même façon que l'excipient. C'est le cas de l'aspirine ou de la vitamine C.

Les carbonates :

On emploie le plus souvent le bicarbonate de sodium (qui est le plus utilisé), le bicarbonate de lithium et le bicarbonate de potassium.

Parfois, on emploie des carbonates neutres ; le carbonate de sodium n'est plus utilisé à cause de son faible pouvoir de dégagement gazeux et de sa difficulté de mise en oeuvre (186). On utilise le carbonate de calcium, notamment pour la fabrication de comprimés effervescents à base d'aspirine.

Les proportions d'acide et d'agent alcalin à utiliser sont réglées par la stœchiométrie de la réaction.

Formes retard -

D'après JAMINET (112) et JACK (111), les méthodes utilisées pour prolonger l'action d'un médicament appartiennent à trois grandes disciplines :

- Physiologiques : c'est ainsi que l'on met à profit l'action de l'adrénaline qui par vaso-constriction ralentit la résorption de médicaments utilisés par voie parentérale. On pourra encore, pour les préparations

par voie orale, associer le principe actif à des substances inhibant les systèmes enzymatiques tubulaires assurant l'excrétion ; dans ce but, on peut utiliser la caronamide et le bénomid, ce dernier ayant été associé à la pénicilline.

- Chimique : on peut augmenter le temps de demi-vie biologique d'un produit en modifiant sa molécule par encombrement stérique, par exemple en estérifiant une fonction alcool par un acide aliphatique à chaîne plus ou moins longue. D'autres méthodes font appel à la formation de sels ou de complexes peu solubles : aspirinate d'aluminium ou bien complexe pénicilline procaine.

- Galénique : toujours d'après JAMINET, on peut subdiviser ce procédé en plusieurs types :

1°/ Formes résultant de la division d'un médicament : formes résultant de la réunion de plusieurs unités enrobées (33 - 54 - 85 - 111 - 112 - 242) :

Il s'agit de la juxtaposition dans une même unité de plusieurs formes enrobées à délitement échelonné. C'est le cas des "spansules" et des "lentérules" où l'on trouve, au sein d'une gélule dans le premier cas où d'un comprimé dans le deuxième différents granulés juxtaposés dont l'un, non enrobé, cède son principe actif de façon rapide, les autres, enrobés, de façon différente, le cédant de façon échelonnée dans le temps. Les enrobages sont constitués de mélanges de cires végétales, animales ou synthétiques. Les variations des temps de dissolution sont obtenues en faisant intervenir différents facteurs : épaisseur de l'enrobage, nature et composition de ce dernier.

A ce type de procédé, se rattache celui mis en oeuvre récemment de la micro encapsulation (68 - 69 - 176 - 264). Le principe actif étant enveloppé d'une membrane le protégeant du milieu extérieur, sa libération pourra se faire par deux mécanismes selon les matériaux utilisés :

- Dissolution progressive de la membrane enrobante, dont on fait varier l'épaisseur et la nature de la même façon que précédemment ;
- Utilisation d'une membrane permettant la diffusion par osmose lente et contrôlée du principe actif qui doit être ici hydrosoluble. Ce procédé peut être appliqué aux solides mais aussi aux liquides, on obtient ainsi une poudre qui, convenablement mélangée à des excipients, peut conduire à un comprimé.

L'obtention de micro capsules se fait par dispersion du principe actif dans un véhicule ne le dissolvant pas ; puis, on forme une émulsion en ajoutant l'agent de recouvrement et en faisant varier une ou plusieurs des conditions : pH, solubilité ou température, on obtient une coacervation de l'agent de recouvrement sous forme d'une pellicule liquide autour du principe actif. Cette pellicule est solidifiée (en agissant sur les facteurs énumérés ci-dessus) en ajoutant un catalyseur susceptible de faire se polymériser l'agent de recouvrement introduit alors sous forme de monomère (69 - 176).

La nature de la membrane enrobante est variable selon le but recherché : membrane gastro résistante, membrane dialysante ou membrane libérant le principe actif par sa solubilisation.

Les produits utilisés sont divers et peuvent agir dans l'un ou l'autre sens ou plusieurs à la fois. Citons quelques-uns de ces produits :

- . Gélatine (66 -176 - 252)
- . Nylon (176)
- . Polyamide (239)
- . Ethyl cellulose (66 - 176)
- . Acétophtalate de cellulose (66 - 176)
- . Vinyl acétate d'éthylène (66 - 176)
- . Alcool polyvinylique (66 - 176)
- . Poly éthylène glycol (66 - 176)

Le principe actif sera libéré selon divers mécanismes (176) :

- Par fracture de l'enrobage :
 - . Due à des facteurs externes : pression, choc, abrasion,
 - . Due à des facteurs internes : tension de vapeur, pression osmotique.
- Par dégradation de l'enrobage :
 - . En relation avec la température : fusion ou décomposition,
 - . Par solubilisation : due à l'action de solvants, de micro organismes ou d'enzymes.
- Par diffusion à travers la membrane :
 - . L'épaisseur de la membrane, le taux de dissolution du principe actif, le taux de diffusion du solvant à l'intérieur de la capsule et le taux de diffusion de la solution du principe actif à l'extérieur influenceront la libération du médicament.

Une autre forme de division est celle des comprimés à couches multiples.

Comprimés à couches multiples :

On peut, par ce procédé, fabriquer des comprimés stratifiés, chaque couche ayant un temps de désagrégation différent, ces temps allant du plus rapide au plus long. Les résultats sont obtenus en faisant varier les compositions de chaque couche, en utilisant des excipients dont l'hydrophilie est différente.

2°/ Formes résultant d'une rétention du médicament (56 - 106 - 111 - 112 - 242) :

- Rétention par une matrice inerte :

Le principe actif est incorporé dans une matière insoluble. Il se trouve alors emprisonné dans un réseau de fins canalicules où les sucs digestifs viendront le dissoudre.

- Rétention sous forme de complexes (33 - 36 - 85 - 112) :

Dans ce groupe figurent les produits fixés sur des résines échangeuses d'ions ou sur des tanins, sous forme d'adsorbats ou de complexes qui seront élués par les sucs digestifs.

DEUXIEME PARTIE

MOYENS D'ETUDE PERMETTANT D'EVALUER L'IMPORTANCE DES FACTEURS TECHNOLOGIQUES SUR L'ABSORPTION D'UN PRINCIPE ACTIF

De nombreuses techniques ont été utilisées et codifiées. On peut les diviser en deux grands groupes :

- Technique in vitro
- Technique in vivo

Elles sont appliquées dans deux buts et selon deux points de vue différents :

- Le contrôle in vitro est avant tout destiné à fournir des critères constants et reproductibles avec un appareillage donné, sur la vitesse de libération d'un principe actif à partir de la forme pharmaceutique définitive. De la sorte, on pourra vérifier l'homogénéité de comportement de différents lots de fabrication.
- Le contrôle in vivo est destiné à évaluer de quelle façon se fait l'absorption d'un produit actif pur ou mis en forme, et son objet est de vérifier quelle sera la formulation capable de mettre à la disposition de l'organisme le principe actif dans les conditions désirées. D'où son intérêt dans cette recherche.

Ainsi, on voit que ces deux types de tests, loin d'être opposables, sont complémentaires : le test in vitro prenant le relai en contrôle de routine du test in vivo pratiqué en recherche. (A condition, toutefois, de déterminer quelle est la technique in vitro qui reflète le mieux la réalité de ce qui se passe in vivo).

A côté de ces techniques, nous étudierons les moyens d'interprétation mathématique des résultats dont peut disposer l'expérimentateur.

CHAPITRE I

=====

TECHNIQUES IN VITRO

Ces techniques portent sur l'étude de la capacité d'une forme orale à libérer son principe actif. A cet effet, on étudie :

- Le temps de désintégration en milieu aqueux (230),
- La dissolution du principe actif à partir de la forme galénique.

1°/ TEMPS DE DELITEMENT

Cet essai est rendu obligatoire par le Codex et figure à toutes les Pharmacopées. On peut de la sorte étudier le temps de délitement des comprimés, dragées, gélules ou capsules.

Différents appareillages sont codifiés et permettent d'étudier ces temps de façon reproductible à condition de bien respecter l'uniformité des dimensions des récipients dans lesquels se fera la désagrégation, le volume du liquide, sa température et les conditions d'agitations exigées par ces tests. Dans ces conditions, ROLAND (219) a pu mettre en évidence différents types morphologiques de délitement de comprimés reflétant l'aptitude de ces derniers à pouvoir disperser leurs éléments constitutifs en particules colloïdales plus aisément absorbables. C'est ainsi qu'il note quatre types de délitements : (Figure A).

Ces tests seront plus fidèlement ajustés à ce qui se passe dans l'organisme si l'opérateur imite les conditions physiologiques de température, pH, viscosité et présence d'enzyme. C'est ainsi que l'U.S. Pharmacopée utilise le suc gastrique artificiel et un suc intestinal artificiel. De plus, divers auteurs ont proposé d'adapter la morphologie de l'appareil à celui du système gastro intestinal et de recréer les mouvements

TYPE MORPHOLOGIQUE DE DELITEMENT
D'APRES ROLAND (219)

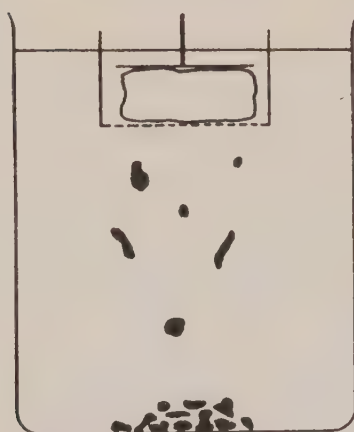
Types de
délitement

Aspect des éléments désagrégés

Aspect après
délitement

1. Macrogranulaire

Agglomérats
(granulés ou
plaquettes)

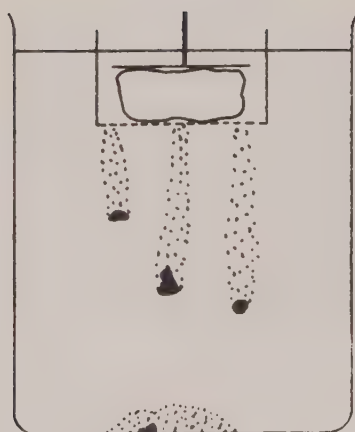


Dépôt non dispersible

FIGURE A

2. Microgranulaire

a) Agglomérats
en comète



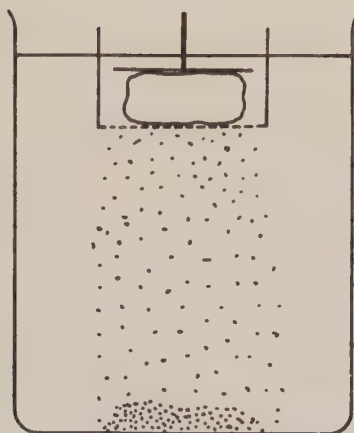
Types de
délitement

Aspect des éléments désagrégés

Aspect après
délitement

3. Microgranulaire

b) Particulaire

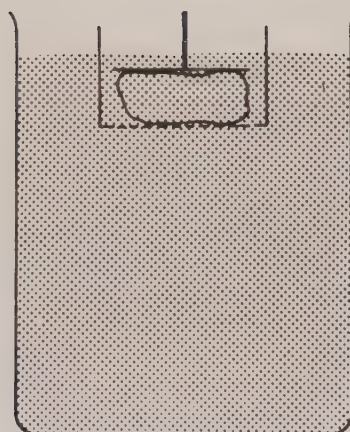


Dépôt aisément dispersible

FIGURE A (Suite)

4. Micronisé

Colloïdal



Liquide opalescent
(aucun dépôt)

péristaltiques, soit par l'agitation du produit examiné, soit par l'agitation du milieu d'étude à l'aide de pompes.

Malheureusement, aucune de ces techniques n'est universellement adoptée et les résultats obtenus par les différentes méthodes ne peuvent être comparés entre eux (238).

2°/ ETUDE DE LA DISSOLUTION DU PRINCIPÉ ACTIF

Les techniques précédentes nous apportent des indications sur les paramètres technologiques influençant la libération du principe actif (118). Mais elles ne nous renseignent pas en fait sur la possibilité qu'a l'organisme d'utiliser le médicament libéré, c'est-à-dire sur l'étape la plus importante de la résorption : la dissolution du principe actif. C'est pourquoi les tests de délitement sont complétés par des tests de mise en solution du produit (235) et tendent à les remplacer.

Cela permettra de déterminer le temps de dissolution maximum in vitro du médicament ou bien la quantité solubilisée en un temps donné.

Différentes techniques sont ici également utilisées et elles s'appliquent plus spécialement au cas des médicaments à action prolongée, car ces préparations contiennent des doses beaucoup plus importantes que celles des formes habituelles. Une préparation défectueuse risquerait de conduire à une libération trop rapide entraînant des effets toxiques ou bien une cession trop lente conduisant à une inefficacité thérapeutique. Selon J. COTTE (36) lors de l'établissement d'une technique d'étude, l'on doit tenir compte des facteurs suivants (36 - 38 - 153) :

a/ La température :

La température du milieu doit être réglée à 37°, de façon précise durant tout le temps de l'essai.

b/ Les mouvements du récipient :

Les essais doivent être effectués dans des récipients mobiles de façon à imiter le péristaltisme. Ces mouvements peuvent être :

- Linéaires : le produit à étudier est déposé sur une grille à la partie inférieure d'un panier doté de mouvements de haut en bas ;
- Rotatifs : la préparation peut se mouvoir librement dans un flacon tournant autour d'un axe ;
- Circulaires : la préparation peut être introduite dans une couronne tournant dans plusieurs plans.

c/ La forme du récipient :

On a cherché parfois à donner aux récipients mobiles un aspect proche de celui de l'intestin.

d/ La dimension et la taille des particules :

Les appareils devraient être munis de grille empêchant les particules solides de passer dans le milieu de solubilisation.

e/ La qualité du liquide éluant :

Sa composition doit être la plus proche possible de celle des sucs gastro-intestinaux. A cet effet, on a élaboré des sucs gastriques artificiels et des sucs intestinaux artificiels en fixant le pH du milieu aux valeurs physiologiques et en ajoutant des sels pour respecter la pression osmotique et des enzymes qui jouent également un grand rôle dans la dissolution d'un produit.

L'essai commençant dans le milieu gastrique artificiel, on peut le continuer en changeant en une seule fois le milieu, mais il est préférable de remplacer de façon progressive le milieu dit gastrique par le milieu dit intestinal.

f/ La quantité du liquide éluant :

Cette quantité doit être constante et suffisante. D'autre part, il est souhaitable que le liquide circule en continu et que l'on rompe l'état d'équilibre existant au bout d'un certain temps entre solvant et soluté par apport de liquide neuf.

Les techniques utilisées ont été décrites de façon détaillée par J. COTTE. Rappelons simplement qu'elles mettent en oeuvre deux types de procédés (36) :

- Mise en contact direct du produit avec le liquide éluant ;
- Dialyse ou filtration : la membrane dialysante figurant la muqueuse gastro intestinale.

A ces procédés peuvent s'ajouter les techniques mettant en présence une phase aqueuse et une phase organique, ce qui permettra de déterminer la balance hydrophile-lipophile de produit et reflètera son aptitude à franchir les barrières lipidiques qui lui sont opposées par l'organisme (57 - 210 - 221).

L'appréciation de la solubilité du principe actif pourra se faire par dosage soit sur le liquide éluant, soit sur le produit restant insoluble. Mais, dans le premier cas, si le médicament est directement en contact avec son solvant, un risque apparaît : c'est celui d'intercepter lors du prélèvement des particules de produit non dissoutes et de fausser considérablement le résultat (cet écueil est évité dans les techniques par dialyse). Dans le deuxième cas, le risque d'erreurs est minimisé par le fait que l'on filtre tout le milieu afin de récupérer les matières solides. On ne pourra cependant pas de la sorte étudier la dissolution du produit en fonction du temps. Il est évident que seule l'utilisation conjuguée des deux types de dosages donnera des résultats intéressants sur la cinétique de dissolution, les procédés de dosage en continu étant les plus riches d'enseignements.

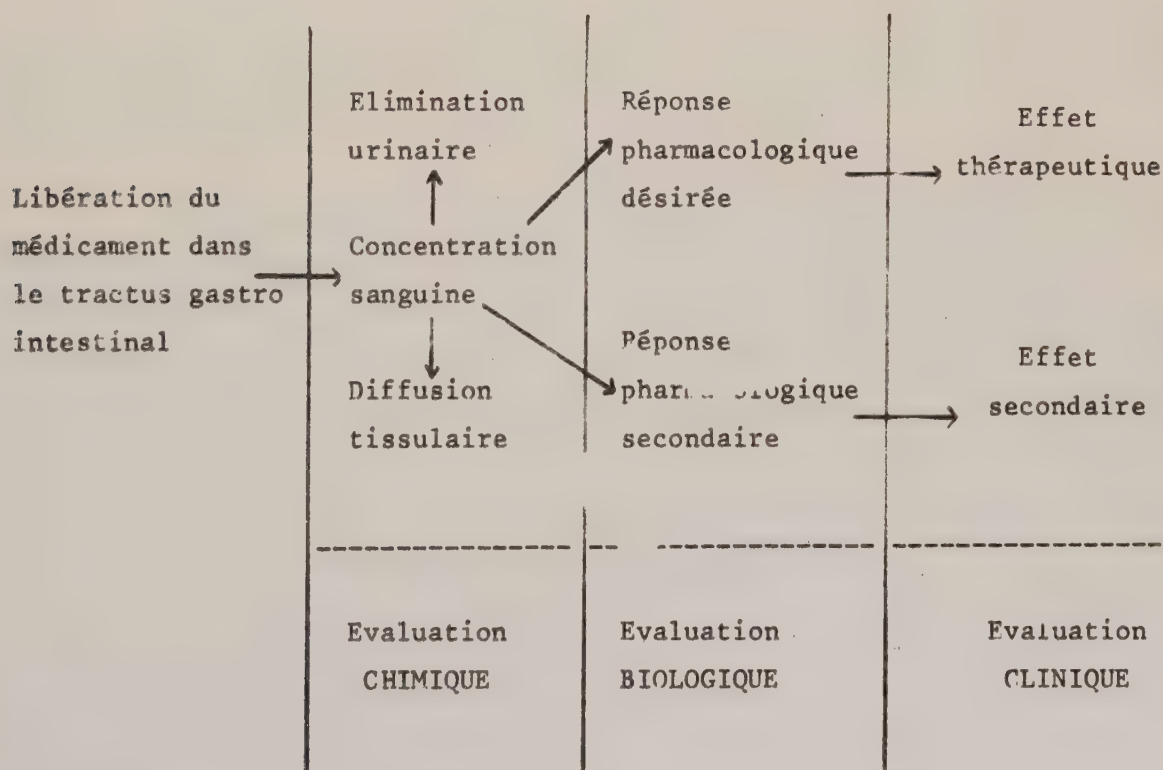
Mais, si de nombreux auteurs ont obtenu une corrélation entre dissolution in vitro et absorption in vivo (147 - 148 - 159 - 161 - 167) et si l'on a pu mettre au point des formes retards dont la courbe de libération in vitro du principe actif s'adapte à la courbe d'élimination in vivo, il n'en est pas moins vrai que les corrélations observées ne constituent pour l'instant, faute de données supplémentaires, que des cas d'espèces (36).

CHAPITRE II

TECHNIQUES IN VIVO

Les techniques in vivo peuvent apporter à l'expérimentation des renseignements sur les deux phases d'absorption d'un produit par l'organisme, à savoir : la libération du principe actif à partir de la forme pharmaceutique et l'absorption du médicament.

Selon BEEKER et TUCHER (18), il existe plusieurs points sur lesquels peut se faire l'appréciation de l'efficacité de telle ou telle forme :



1°/ LIBERATION DU PRINCIPE ACTIF

Les techniques d'étude sont essentiellement physiques, c'est ainsi que pour suivre le délitement d'un comprimé, l'ouverture d'une gélule ou la fusion d'un suppositoire, on peut utiliser :

- Les rayons X (1) avec des substances de contraste (29 - 63 - 78 - 153 - 179 - 240 - 265) ou non (134) ;
- Le fibroscope (113) ou un bisonar (247) pour les comprimés ;
- Une endoradio-sonde de pH pour les gélules (63).

Mais nous sommes ici dans le même cas que lors de l'étude du délitement in vitro : on sait si la forme est susceptible de libérer son principe, mais on ignore dans quelle mesure elle le fait, aussi préfère-t-on à cette mesure celle de l'absorption réelle du produit.

2°/ ABSORPTION DU PRODUIT

2-1 Evaluation clinique :

C'est ici le domaine du médecin et c'est ce point qui décide du devenir d'une spécialité pharmaceutique. Mais cette méthode fait appel à une estimation subjective de l'état du patient (170).

De plus, il est bien connu que les placebos entraînent parfois une réponse thérapeutique, réponse qu'il faudra éliminer en étudiant la différence entre la réponse obtenue avec le principe actif au dosage thérapeutique et la réponse obtenue avec un placebo où le principe actif a un dosage très faible (85). Mais l'emploi de ce procédé pose des problèmes humains d'une grande importance (39).

2-2 Evaluation de l'effet pharmacodynamique (160 - 244) :

Les tests pharmacodynamiques permettant l'appréciation de l'efficacité d'une forme galénique sont très nombreux et l'on pourra de la sorte déterminer le temps d'apparition de l'effet, son intensité et sa durée. Ces résultats seront obtenus par étude soit de l'action pharmacologique directe, soit de l'action secondaire. Donnons quelques exemples :

- Réponse pharmacologique directe :

- . Mesure de l'absorption des barbituriques par l'apparition de narcose (229),
- . Effet de la phénacétine à différentes granulométries sur le S.N.C. par appréciation d'apparition de phénomènes d'ordre psychique (212),
- . Essais Codex des insulines retards par appréciation de la diminution de la glycémie,
- . Appréciation de l'activité d'anti-vitaminique K par l'accroissement du temps de saignement (82),
- . Estimation de la tachycardie provoquée par l'Atropine à partir de différentes formulations (238).

- Réponse pharmacologique secondaire :

- . Etude de préparations retards d'Atropine sur la diminution de la sécrétion salivaire (238),
- . Etude des parasymphicolithiques par la mesure de l'effet mydriatique (198 - 199),
- . Effet des tensio actifs sur la dose léthale de barbituriques chez le poisson ou le rat (87).

Ces tests ont d'autant plus de valeur qu'ils permettent de mettre en évidence l'activité de produits difficilement décelables dans le sang, l'urine, voire les tissus (138).

2-3 Estimations chimiques :

Sous cette rubrique, on peut faire entrer l'évaluation de taux du produit dans les organes, le sang et l'urine. Chacune de ces recherches a son propre intérêt dans l'établissement de la cinétique du produit étudié.

2-3-1 Appréciation du taux tissulaire :

Lors de cette étude, il est possible d'opérer de deux façons (34 - 261) :

- Par prélèvements d'organes,
- Par appréciation externe de la concentration en radio éléments.

Le premier procédé entraîne la nécessité de pratiquer une opération chirurgicale sur le sujet d'expérience, voire même de le sacrifier et de doser le médicament dans les différents organes prélevés.

La teneur des tissus en médicaments sera fonction du temps. Or, ce procédé de mesure ne peut être pratiqué qu'une fois sur le même animal, on obtiendra donc un résultat statique et pour connaître la cinétique d'un produit, on sera conduit selon ce protocole à multiplier les essais avec différents lots d'animaux.

Bien plus séduisante est l'appréciation de la concentration tissulaire par utilisation de radio éléments car l'organisme reste alors intact (34), la mesure étant faite par l'appréciation externe de la radio activité (261).

2-3-2 Etude de l'élimination urinaire :

L'emploi de ce procédé nécessite la connaissance approfondie du métabolisme du produit utilisé ainsi que celle des différentes voies de l'élimination et leur importance réciproque.

On a en effet montré que l'intestin, le poumon, le foie, la peau et la salive (249) contribuent avec les reins à l'excrétion du produit absorbé. La plupart des produits sont recherchés dans les urines et de nombreux travaux ont utilisé ce protocole (52-72-73-74-76-77-94-101-110).

Ces travaux ont montré de façon non équivoque que le taux d'élimination urinaire dépendait du taux sanguin et que la cinétique d'élimination d'un produit dépend de la cinétique de son absorption, tout au moins dans le cas où la réabsorption tubulaire est négligeable.

2-3-3 Appréciation du taux sanguin :

Chacun sait que la valeur des taux cellulaires ainsi que la valeur du taux d'élimination dépendent du taux sanguin d'un produit. Il y a un équilibre entre les taux sanguins, le taux tissulaire, le taux urinaire du médicament, la résorption en retour des produits tissulaires influencera également la valeur des taux sanguins (60).

Les techniques d'études sont faciles à mettre en oeuvre et peu traumatisantes, de plus, l'estimation d'un médicament dans le sang se limite souvent au produit pur, intact ou à son principal métabolite. C'est pourquoi de nombreux auteurs ont utilisé ce procédé (2-3-12-52-53-199-211-228-229).

Deux types de mesures ont été employés :

- Par ponction d'échantillons de sang en des temps bien précis suivant l'administration du produit. Cette manière de procéder conduit à des estimations point par point qui sont selon COHEN (34) entachées d'erreur systématique dans le temps due à une imprécision du début et de la fin du prélèvement. D'autre part, on ne peut effectuer qu'un nombre limité de prélèvements et si près soit-on du début de l'absorption du produit, on ne pourra par mesure ponctuelle déterminer le délai d'apparition du produit ainsi que la valeur de la pente exacte de la courbe initiale d'absorption.
- Par analyse en continu : cette méthode introduite avec l'apparition des appareils de dosage automatique (83-84) ou bien l'utilisation de radio éléments (34-276) permet d'obtenir une courbe continue de variations du taux sanguin qui ne saurait être entachée d'erreurs dans le temps ; la seule erreur à craindre serait une erreur systématique dans la méthode de détermination du produit, cette erreur étant annulée lorsqu'on procède à des essais comparatifs.

On pourra de la sorte, évaluer la concentration sanguine en principe actif dans le temps et déterminer successivement (4) :

- Le délai d'apparition du produit dans le sang,
- Le délai d'obtention du taux maximum et sa valeur,
- Le moment où la concentration du produit s'abaisse.

Les courbes de "séjour sanguin" ont un aspect variable selon les produits étudiés et leur voie d'administration. Elles pourront donner lieu à une interprétation mathématique et seront le point de départ d'une étude de la cinétique du médicament dans l'organisme.

C H A P I T R E I I I

INTERPRETATION MATHEMATIQUE DES RESULTATS

Les données recueillies lors de l'étude des concentrations sanguines et urinaires permettent d'apprécier (34) :

- L'efficacité de l'absorption du médicament en fonction de sa voie d'administration,
- La durée de son séjour dans l'organisme,
- Son volume de distribution,
- Sa vitesse de transfert hors du sang,
- La capacité d'épuration ou d'excrétion rénale.

La pharmacocinétique a pour but de définir et de calculer des constantes à partir des données expérimentales, afin de déterminer l'importance de chaque facteur énumérés ci-dessus.

La première phase d'une telle étude est l'établissement d'un modèle d'étude de la distribution d'un médicament dans l'organisme. Ce modèle permettra, en illustrant de façon simple le métabolisme du médicament, de définir les constantes recherchées.

I - LES MODELES D'ETUDE

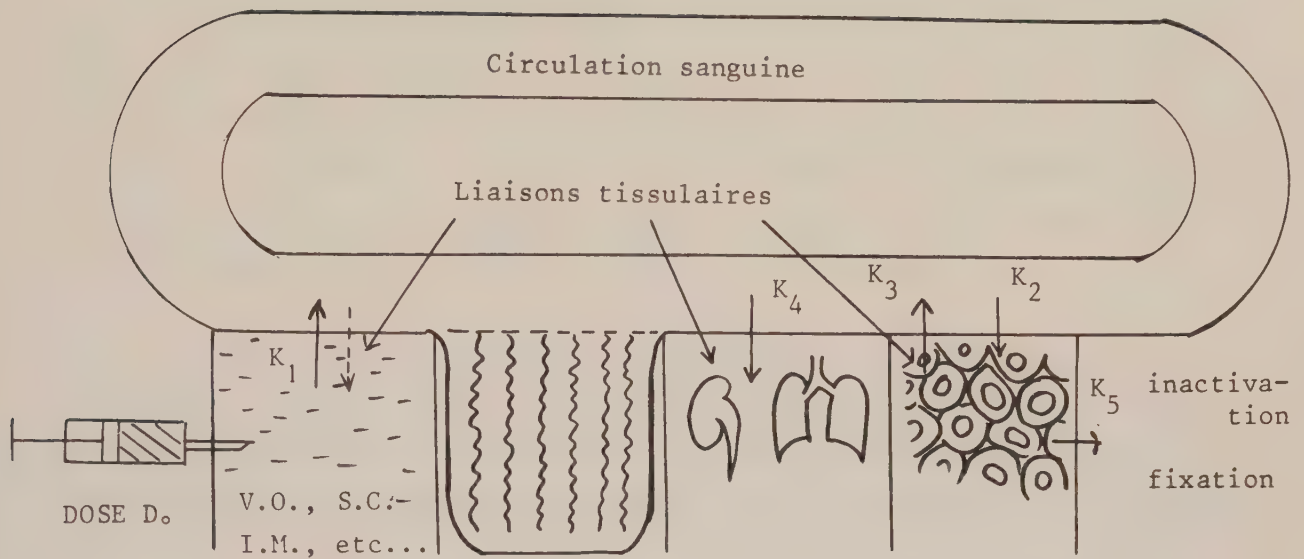
La distribution d'un médicament dans l'organisme a été étudiée par TEORELL en 1937 (254).

A partir de son point de dépôt dans l'organisme, une substance migre dans le sang qui la véhicule dans les tissus où elle pénètre par diffusion.

Une partie du produit est métabolisée, une partie est fixée, et une partie diffuse en retour vers le sang.

Enfin, au niveau de différents émonctoires, la substance est éliminée hors de l'organisme.

FIGURE B



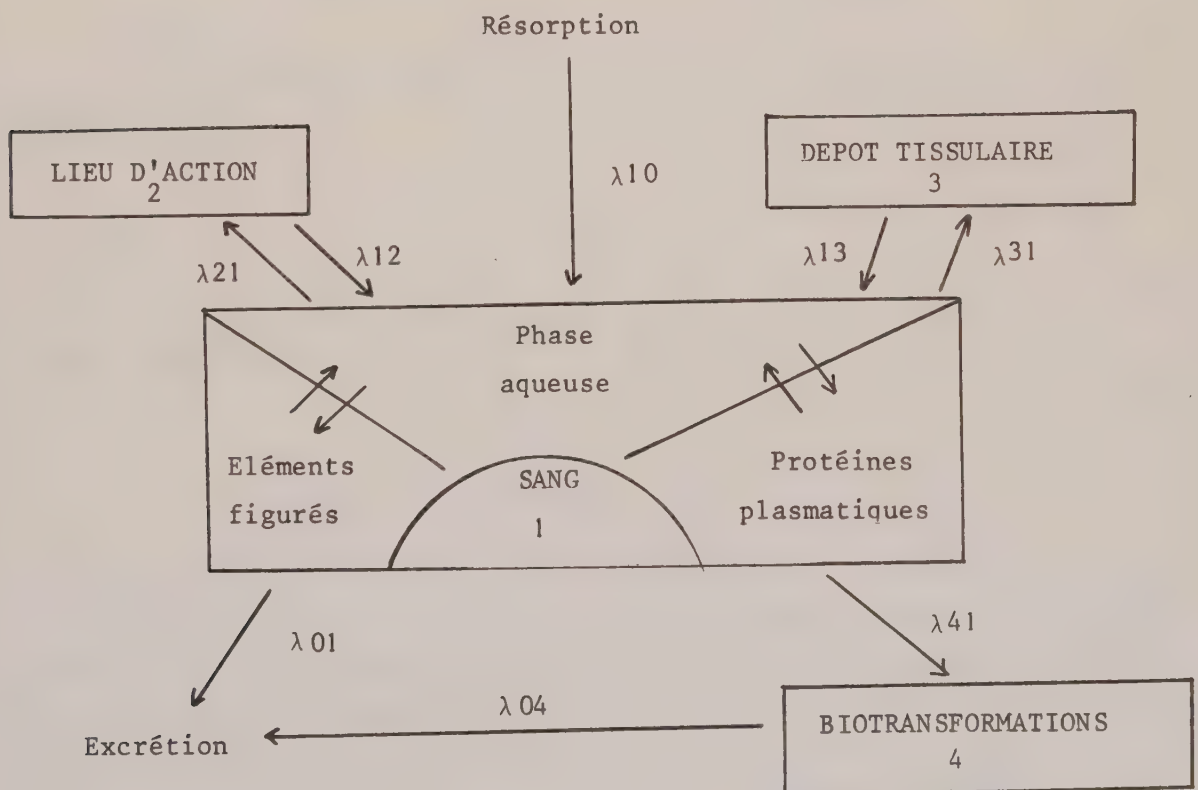
Localisation	Dépôt du médicament	Sang + vol. sang.équiva.	Peins etc élimination	Tissus	Inactivat. tissulaire
Symbole	D	B	K	T	I
Quantité	x	y	u	z	w
Volume	V1	V2	-	V3	-
Concentrat.	$x/V1$	$y/V2$	-	$z/V3$	-
Coeff. de perméabilité	$k'1$	-	$k'4$	$k'2$	-
Vitesse vers la localisation	$k1 = \frac{k'1}{V1}$	-	$k4 = \frac{k'4}{V4}$	$k3 = \frac{k'2}{V3}$	K5
Vitesse hors	Négligeable	-	-	$k2 = \frac{k'2}{V2}$	-
Processus	Résorption	-	Elimination	Diffusion tissulaire	Inactivation

Enfin, au niveau de différents émonctoires, la substance est éliminée hors de l'organisme.

Chaque localisation du principe actif constitue un compartiment dans lequel se trouve une quantité Q de produit existant à la concentration Q/V , V étant le volume du compartiment. La quantité Q varie constamment en raison des phénomènes de diffusion entre chaque localisation. Les transferts de substances se font avec des vitesses de diffusions proportionnelles à un coefficient de perméabilité propre à chaque compartiment et inversement proportionnelle au volume du compartiment.

Le schéma B illustre la conception de la distribution d'un médicament selon TEORELL (254) ; chaque zone verticale correspond à un compartiment, les vitesses de transfert entre chaque compartiment sont figurées par des vecteurs orientés par rapport à chaque localisation du médicament.

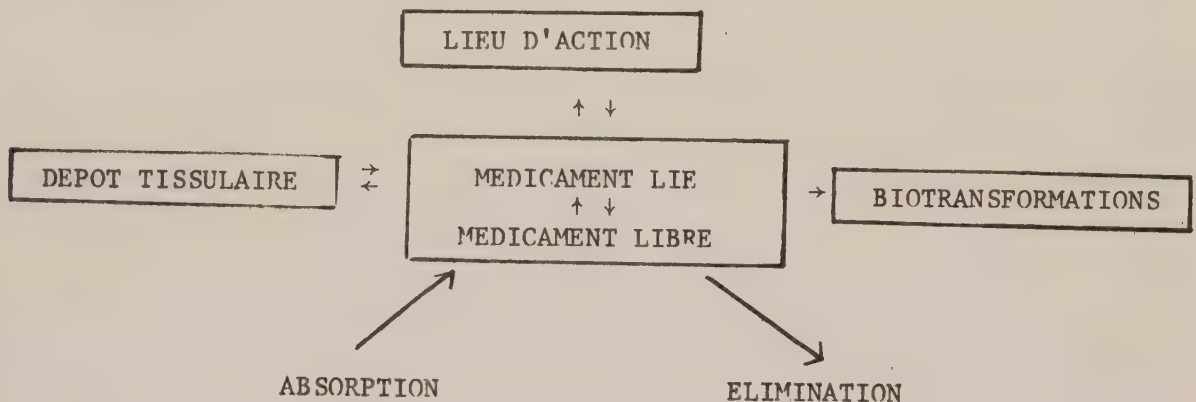
Divers modèles d'étude ont été publiés. Citons le modèle général de la distribution d'un médicament selon COHEN (34) :



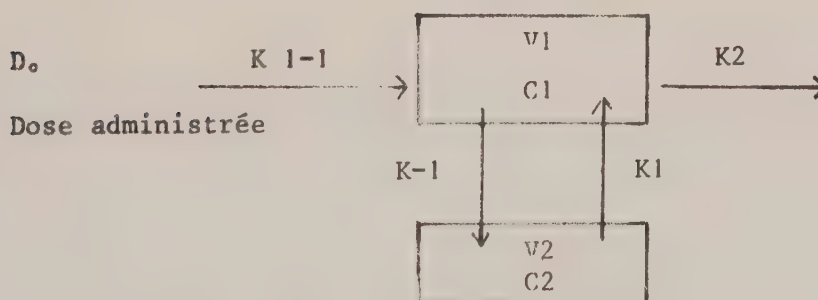
Il s'agit ici d'un modèle à 4 compartiments où figurent divers processus d'ordre physiologique ou pharmacologique :

- L'entrée et la sortie du médicament dans et hors de l'organisme,
- Le déplacement d'un lieu à un autre à travers une barrière,
- La transformation enzymatique du médicament,
- La liaison du médicament aux protéines.

D'autres modèles appliqués à des cas particuliers ont été utilisés par divers auteurs. Citons le modèle de BRODIE (28) :



Des modèles simplifiés ont été utilisés, notamment par WAGNER et METZLZER (271) :



Il s'agit d'un modèle ouvert à deux compartiments, utilisé pour prédire les taux sanguins obtenus après administration de doses multiples d'un médicament. Le même modèle est utilisé afin de calculer les taux d'absorption (273), le taux d'élimination (270). Un modèle équivalent est utilisé par GIBALDI et FELDMAN (91), afin de déterminer l'influence de la voie d'administration sur la concentration plasmatique d'un médicament. ROWLAND et RIEGELMAN (224) ont utilisé également un modèle à deux compartiments en l'appliquant à la distribution de l'acide acétyl salicylique.

Des figurations plus détaillées témoignant de processus de distribution plus complexes ont été utilisées (70-91-93-224).

En fait, chaque modèle utilisé n'est qu'un schéma propre à expliquer la signification de paramètres recherchés par l'expérimentateur. Aussi, ne doit-on pas les considérer comme une représentation absolue du métabolisme ou de la distribution d'un médicament. Ainsi, selon les buts recherchés le modèle pourra être très simple ou très complexe.

2°/ LE TRAITEMENT MATHÉMATIQUE

Les processus d'absorption et d'élimination se font d'après des lois exponentielles de pseudo premier ordre. L'allure des courbes de séjour sanguin et d'élimination dépend du médicament administré, de sa forme galénique et de sa voie d'administration.

2-1 Interprétation des courbes de séjour sanguin :

2-1-1 Après injection intra-veineuse rapide :

Les courbes obtenues dans ce cas se présentent sous l'aspect de fonctions exponentielles simples de la forme (34-43-204) :

$$C = A \cdot e^{-Kt} \quad (1)$$

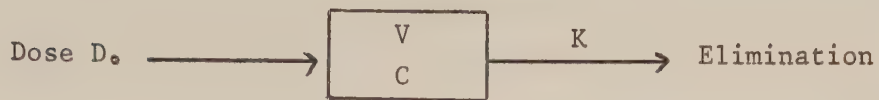
Ou plus fréquemment (34-91-223-255) :

$$C = Ae^{-at} + Be^{-bt} \quad (2)$$

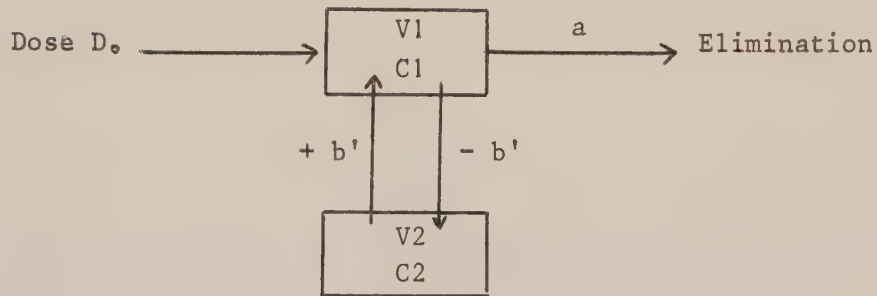
C est la concentration au temps t, les constantes A et B sont des paramètres des quantités de substances se trouvant au temps $t = 0$ dans des compartiments hypothétiques (34), les facteurs K, a et b sont des coefficients de transferts hors des compartiments utilisés.

L'utilisation de l'une ou de l'autre des équations dépendra du modèle d'étude utilisé.

L'équation (1) correspond à un modèle à un compartiment :



L'équation (2) correspond à un modèle à deux compartiments :



Au temps $t = 0$: - Toute la quantité de médicament se trouve dans le compartiment central du modèle (1),

- Ou répartie dans les deux compartiments du modèle (2)
d'où : . Pour le modèle (1) :

$$A = V \cdot C_0$$

. Pour le modèle (2) :

$$A = V1 \cdot C1_0$$

$$B = V2 \cdot C2_0$$

On peut passer du modèle (2) au modèle (1) en fusionnant les compartiments 1 et 2 en un seul et on pose :

$$V1 + V2 = V = \text{Volume apparent de distribution que l'on note par } V_d$$

$$a + b = K = \text{Taux de décroissance ou taux apparent d'élimination}$$

Détermination du volume apparent de distribution (43-229-269) :

Au temps $t = 0$, la concentration dans le compartiment central (sang) est proportionnelle à la dose administrée et inversement proportionnelle au volume apparent de distribution :

$$C_0 = D_0 / V_d$$

Le volume apparent de distribution ne peut être assimilé au volume exact du sang, car il faut tenir compte de la diffusion du produit dans les tissus. Le volume apparent de distribution est en fait le volume de dilution de la dose D_0 introduite dans l'organisme.

Si l'on porte les concentrations sanguines en fonction du temps en coordonnées semi-logarithmiques, on obtient une courbe ayant l'allure d'une droite. Si l'on prolonge cette droite jusqu'au point d'intersection avec l'axe des abscisses, on obtient en ce point la valeur de C_0 , d'où l'on peut tirer V_d :

$$V_d = D_0 / C_0$$

L'équation de la concentration sanguine après injection intraveineuse rapide est donc dans le cas le plus simple :

- En quantité de produit : $D_t = D_0 e^{-Kt}$

- En concentrations : $C = C_0 e^{-Kt} = D_0 / V_d \cdot e^{-Kt}$

Détermination du taux apparent d'élimination :

On peut obtenir directement la valeur de K en mesurant la pente de la droite de décroissance obtenue ci-dessus.

2-1-2 Après perfusion :

L'allure de la courbe de concentration sanguine est plus complexe et définie par la relation (255-290) :

$$C = r/K (1 - e^{-Kt})$$

r est le débit de la perfusion,

K est le taux d'élimination.

Cette relation n'est valable que durant le temps que dure la perfusion. Immédiatement après l'arrêt de cette dernière, la concentration sanguine obéit aux mêmes équations que celles utilisées pour l'injection rapide.

2-1-3 Après administration par toute voie non immédiate :

On entend par voie non immédiate toute voie différente de l'injection intra-veineuse.

La courbe de concentration sanguine obtenue ici est très différente des précédentes, elle présente une phase de croissance, une phase de stabilisation et une phase de décroissance.

Cette courbe répond - tout au moins dans le cas où on emploie un modèle à deux compartiments - à l'équation de TEORELL (254) :

$$C = D_0/Vd \cdot \frac{K_a}{K_a - K_d} (e^{-K_d t} - e^{-K_a t})$$

D_0 = Dose administrée (mg/kg)

Vd = Volume apparent de distribution l/kg

K_a = Taux apparent d'absorption par heures

K_d = Taux apparent d'élimination par heures

Divers auteurs ont utilisé cette équation (34-161-190-273), d'autres, utilisant des modèles plus complexes, ont appliqué au cas de l'administration par voie orale l'équation (91-205-224-296) :

$$C = Ae^{-at} + Be^{-bt} \dots + Ne^{-nt}$$

L'utilisation de l'une ou l'autre des équations dépend de la définition que l'on donne aux constantes et par voie de conséquence du modèle employé.

La détermination des taux de transfert est difficile graphiquement (nous exposerons plus loin la méthode que nous avons utilisée).

Signalons que les auteurs anglo-saxons déterminent généralement les valeurs exactes des taux apparents d'élimination et d'absorption par l'utilisation de calculateurs analogiques permettant de donner des valeurs hypothétiques à ces taux. On obtient alors une série de courbes dont l'une passe par les points expérimentaux et on en déduit immédiatement la valeur des taux recherchés. Certains auteurs ont opéré de la sorte à l'aide de programmes de calculs adéquats et ont pu donner ainsi en utilisant quelques points expérimentaux des courbes continues du séjour sanguin d'un médicament (41-70)91-178-190-205-223-266-271).

Une méthode originale mise au point par ROWE (222) consiste à remplacer le calculateur analogique par un montage dans lequel l'absorption et la distribution d'un médicament est simulée par la dilution d'un produit soluble avec des quantités de solvants ayant des débits variables.

Il est cependant évident que seule, la mesure en continu in vivo de la concentration sanguine permettra de déterminer de façon précise et directe le délai d'apparition du produit dans le sang, le temps exact au bout duquel la concentration sanguine se stabilise et le temps au bout duquel cette concentration s'abaisse.

On pourra déduire de telles courbes la fraction de la dose absorbée. Celle-ci est donnée par la relation (34-41-224-269) :

$$FD = VK \int_0^{\infty} C dt$$

F est la fraction de la dose D absorbée
V est le volume apparent de distribution
K est le taux d'élimination
C est la concentration

L'intégrale se calcule en mesurant la surface délimitée par la courbe et l'axe des ordonnées.

Le pourcentage de la quantité absorbée au temps t est donné par la relation (161) :

$$\% \text{ absorbé} = \frac{n}{D^{\infty}} \times 100 = \frac{C(t) + K \int_0^t C dt}{K \int_0^{\infty} C dt}$$

Ct étant la concentration au temps t.

Ces divers points examinés montrent bien combien sont riches d'enseignement les courbes de concentration sanguine.

2-2 Etude de l'élimination :

L'élimination d'un médicament se fait selon une loi exponentielle de premier ordre.

L'étude de l'élimination é été réalisée par LAPP (136-137) qui a introduit les notions d'hémikrèse ou temps de demi-vie biologique et de pro-torrhée ou vitesse initiale d'absorption. Nous n'entrerons pas dans le détail des calculs des paramètres. Notons simplement que le temps de demi-vie biologique est donné par la relation (34-113) :

$$T_{1/2} = \frac{0,693}{K}$$

K est le taux d'élimination, il est calculé par la relation (113) :

$$K = \frac{2,303}{t} \log \frac{C_0}{C}$$

C_0 est la concentration en médicament du niveau du substrat au temps t_0 choisi dès que l'équilibre de diffusion du médicament est atteint.

C est la concentration du médicament en un temps fixé arbitrairement.

Le concept de temps de demi-vie est très important, il permet de calculer la dose "retard" de médicament à incorporer dans une préparation pour compenser les pertes dues à l'élimination :

La dose retard est :

$$D_R = K D_0 \cdot h$$

K = Taux d'élimination

D_0 = Dose nécessaire pour produire l'effet thérapeutique désiré

h = Temps pendant lequel l'effet doit être réalisé

La dose globale à incorporer dans la forme pharmaceutique est la somme de la dose D_0 initialement utilisable et de la dose retard, d'où :

$$\text{Dose globale} : D_0 + K D_0 h$$

Le calcul de K est également accessible par la mesure des concentrations sanguines, en effet la relation :

$$K = \frac{0,693}{T_{1/2}}$$

peut s'appliquer en connaissant $T_{1/2}$, soit le temps où la concentration plasmatique a diminué de moitié par rapport à la concentration maximum (161).

Il faut cependant apporter des restrictions quant à la signification du temps de demi-vie biologique ; en effet, le médicament n'est pas éliminé intact, mais sous forme métabolisée. Chaque métabolite possède son propre taux d'élimination et son propre temps de $1/2$ vie biologique. Aussi, certains auteurs (45-163) ont-ils proposé des modèles d'études de l'élimination tenant compte de la présence des métabolites.

De plus, il convient de considérer que les taux d'élimination et les temps de demi-vie biologique d'un même médicament varient selon les individus et selon l'état particulier du sujet.

D'où la prudence à observer lors de l'utilisation des relations précédentes pour la préparation des médicaments retards.

TROISIEME PARTIE

RAPPELS SUR LE METABOLISME DE L'ACIDE ACETYL SALICYLIQUE

Lors de notre expérimentation, nous avons utilisé comme traceur l'acide acétyl salicylique, aussi nous est-il apparu utile de préciser quelques points en ce qui concerne son métabolisme.

-:-

1°/ FACTEURS PHYSIOLOGIQUES DE L'ABSORPTION DE L'ASPIRINE

Comme pour tous les médicaments, l'absorption sera fonction du moment où le produit sera administré car les facteurs physiologiques influençant la résorption varient dans la journée.

L'acide acétyl salicylique subit une absorption à deux niveaux :

1-1 Au niveau gastrique (30-144-181-189-209-215-258) :

Le pH gastrique est acide. Sa valeur moyenne est de 1,4. Cette valeur varie selon le degré de vacuité de l'estomac. L'aspirine dont le pK_a est de 3,5 se trouve alors sous forme non ionisée lipo-soluble, et subit une absorption importante par diffusion lipidique passive, cette diffusion sera d'autant plus favorisée que le pH du milieu sera bas et donc que la dissociation de l'aspirine sera faible (35-51-100-108-150-152-232-245).

Par rapport à la surface de l'épithélium gastrique, l'aspirine subit une absorption élevée. Mais cette absorption dépend de l'état physiologique de l'estomac, de telle sorte que, la présence d'aliments freinant la diffusion du produit ou au contraire l'absence d'aliments devant la favoriser, mais ralentissant les mouvements, ainsi que les variations de pH et de viscosité qui en découlent, font que selon le moment où l'acide acétyl salicylique sera administré, l'absorption gastrique du produit représentera une part plus ou moins importante de l'absorption gastro intestinale dans son ensemble (181-260).

1-2 Au niveau intestinal :

Le pH intestinal est plus élevé et sa valeur moyenne selon les circonstances physiologiques est de 5,3. L'aspirine s'y trouvera donc sous forme plus ionisée que dans l'estomac, circonstance moins favorable à sa diffusion lipidique. Mais, de par la très grande surface de contact et le brassage permanent provoqué par le péristaltisme, il semble que la résorption intestinale, notamment au niveau du jéjunum (2) représente une partie non négligeable de l'absorption digestive dans son ensemble et pourrait même dans certains cas l'emporter sur l'absorption purement gastrique (149-209).

Divers travaux illustrent ce fait : c'est ainsi que, si l'on administre à des animaux ou à des humains de l'aspirine tamponnée à pH alcalin ou bien divers sels d'aspirine, on constate une résorption beaucoup plus rapide et plus élevée qu'avec l'aspirine classique sous forme non dissociable en milieu acide (50-140-148-177-208-243-257). Ce fait serait explicable par une accélération de la vidange gastrique (tout au moins dans le cas où l'estomac est vide de tous aliments) permettant à ces produits d'atteindre plus rapidement leur site d'absorption privilégié (56-98-177).

D'autre part, l'administration d'acide acétyl salicylique enrobé par des produits inertes en milieu gastrique, mais facilement désagrégés en milieu intestinal, montre que dans ce cas, l'absorption n'est pas significativement différente de celle obtenue avec de l'acide acétyl salicylique non enrobé, pouvant entrer en contact avec le milieu gastrique (51).

2°/ LA SALICYLEMIE

Si l'on examine les variations de salicylémie totale, après une prise unique d'aspirine et qu'on les matérialise par une courbe de concentrations sanguines, en fonction du temps, on observe trois stades :

- Une partie ascendante,
- Une partie en plateau,
- Une partie descendante.

En un instant donné, le taux de salicylémie résulte d'un équilibre entre absorption digestive tendant à augmenter ce taux et élimination rénale proportionnelle à la concentration sanguine et tendant à le faire décroître.

Ainsi, l'allure de la courbe de salicylémie s'explique de la façon suivante :

- Premier stade : l'absorption gastro intestinale est intense et l'épuration rénale ne peut éliminer rapidement le produit se trouvant dans le sang d'où augmentation du taux sanguin.
- Deuxième stade : un équilibre s'établit entre élimination et absorption. L'absorption gastro intestinale remplaçant au fur et à mesure ce qui est éliminé, le taux sanguin se trouve alors constant.
- Troisième stade : l'absorption gastro intestinale ralentit et cesse, alors que l'épuration continue et son influence l'emporte, le taux sanguin décroît constamment.

De la sorte, l'étude de la salicylémie totale nous renseigne de façon précise sur la cinétique générale du produit, mais en principe, elle ne nous indique pas de façon formelle l'intérêt thérapeutique de telle ou telle association. En effet, au niveau sanguin, on observe deux sortes de dérivés salicylés :

1°/ Une fraction de salicylés libres, la seule qui soit vraiment efficace car la seule à pouvoir diffuser dans les tissus (211). Cette fraction se décompose en acide acétyl salicylique resté intact et salicylates provenant de l'hydrolyse de ce dernier. Diverses expériences ont montré l'existence d'un enzyme doté de propriétés aspirine estérasique au

niveau du sérum et des hématies et si in vitro la désacétylation est faible (95-102-209), il n'en est pas de même in vivo où 70 à 90 % de l'aspirine est hydrolysée dans le sang (139-209).

2°/ Une fraction de salicylés conjugués aux protéines plasmatiques et ne diffusant pas dans les tissus.

Il y a équilibre entre salicylés libres et salicylés liés et cet équilibre est sous la dépendance du pH sanguin, la fraction liée est la plus importante et le taux de salicylés libres est fonction du taux de salicylémie totale (50-209-263). Pour cette raison, l'appréciation de la salicylémie totale nous permettra de faire une étude comparative de l'efficacité thérapeutique présumée de diverses formes galéniques de salicylés.

Aux deux fractions précédemment citées, il convient d'ajouter une fraction de salicylés déjà atteinte par les enzymes permettant leur détoxification. C'est ainsi que HOLLISTER et LEVY signalent la formation de dérivés glycuco conjugués au moment du passage à travers la membrane gastro-intestinale (109). Mais cette dernière fraction est numériquement très faible.

Enfin, il convient de signaler l'existence d'un transfert hémolympatique de salicylés, l'accroissement du taux lymphatique étant parallèle à celui du taux sanguin (8).

2°/ CONJUGAISON ET DEGRADATION DES SALICYLES

L'acide acétyl salicylique subit plusieurs transformations d'importance variée selon différents mécanismes.

- Hydrolyse : (109-181-209) déjà citée au niveau du sang, elle s'effectue également de façon intense dans divers tissus, mais surtout dans le foie et le rein et conduit à la formation de salicylates qui gardent les propriétés thérapeutiques de l'aspirine (277).

- Oxydation : (40-209) elle conduit après hydrolyse à la formation d'acide gentisique et à la formation d'acide 2-3-5 tri-hydroxy-benzoïque. Ou bien, directement il se forme de l'acide acétyl gentisique. Les lieux de formation de ces divers composés sont très variés : rate, foie, reins, etc... et leur activité thérapeutique demeure, bien qu'inférieure à celle de l'aspirine (277).

- Condensation avec le glycocolle : (209) conduit à la formation d'acide salicylurique qui constitue le principal métabolite des salicylés chez l'homme (109).

- Glycuro-conjugaison : (109-209) elle se fait principalement au niveau du foie et selon deux mécanismes d'importance équivalente : estérification sur la fonction acide ou éthérification sur la fonction phénol libérée par hydrolyse.

- Formation d'acide uramino salicylique : (209) par condensation entre acide salicylique et de l'acide gentisique.

L'excrétion des salicylés se fait par différents émonctoires : bile, sueur et principalement urine (209).

Seule, une faible fraction de salicylés restés intacts sera éliminée, environ 10 % de la dose absorbée. Cette quantité sera fonction du pH urinaire (109-209) et pourra être portée à 95 % de la dose absorbée par alcalinisation de l'urine (209).

Le reste sera éliminé sous forme métabolisée de la façon suivante (209) :

- Dérivés glycocolle-conjugués : acide salicylurique ou acide hydroxy hippurique (10 à 50 %) ;
- Dérivés glycuro-conjugués (15 à 40 %) ;
- Acide gentisique (10 %) ;
- Acide uramino salicylique (15 à 40 %) ;
- Dérivés d'oxydation plus poussée en faible quantité.

Le passage des salicylés dans l'urine se fait par filtration, diffusion glomérulaire et sécrétion tubulaire (209).

Q U A T R I E M E P A R T I E

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous avons cherché à déterminer l'influence qu'exercent divers facteurs galéniques sur l'absorption d'un médicament. A cet effet, nous avons utilisé comme traceur l'acide acétyl salicylique en raison du fait que ce produit se trouve dans de nombreuses spécialités pharmaceutiques sous différentes formes galéniques.

Il convient de signaler que les résultats obtenus ne peuvent s'appliquer qu'au seul cas de l'acide acétyl salicylique. Chaque traceur étant un cas particulier.

L'étude de cette absorption a été réalisée en continu in vivo chez des animaux de laboratoire et il nous a semblé intéressant de tenter de déterminer l'influence qu'exercent sur la salicylémie les facteurs suivants :

Par la voie orale :

- Etat physique de l'aspirine administrée pure,
- Association tendant à augmenter la vitesse d'absorption :
 - . Comprimés effervescents,
 - . Association et sels solubles.
- Enrobages tendant à soustraire la muqueuse gastrique à l'agression due au contact direct avec l'acide acétyl salicylique.

Par la voie intra-veineuse :

- La nature chimique du soluté,
- Le pouvoir tampon du solvant.

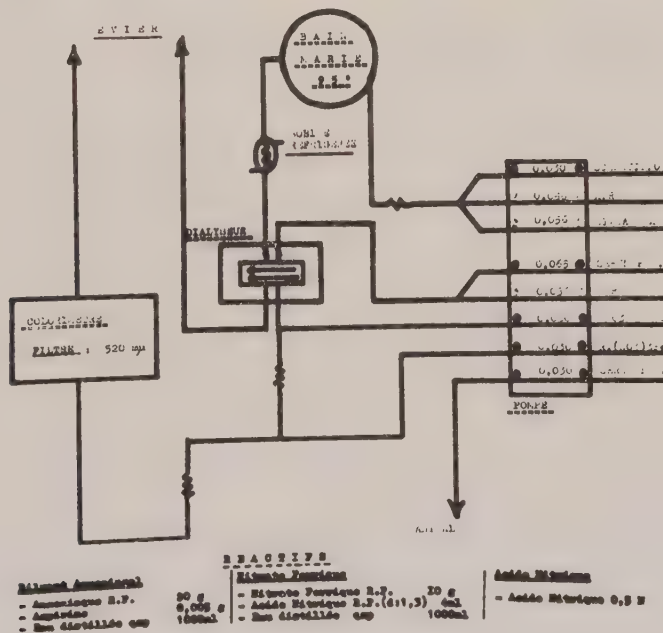
CHAPITRE I

=====

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

1°/ EVALUATION DE LA SALICYLEMIE

La salicylémie est appréciée en continu in vivo au moyen d'un auto-analyseur Technicon. Le dosage est réalisé sur le sang total (4-75) grâce à un manifold (Fig. A) mis au point par le laboratoire et inspiré de celui utilisé par BLAMPIN (23-83-84) et GALLI (88) pour le dosage des salicylés.



- Le dialysat est neutralisé puis additionné de nitrate ferrique ;
- La coloration est appréciée au colorimètre à 520 mμ.

Ce dosage nous donne les salicylés totaux, on ne peut donc différencier l'aspirine libre liée et ses métabolites, cependant l'appréciation de la salicylémie totale est ici utilisée dans un simple but comparatif.

Composition des réactifs :

- Diluant ammoniacal :

Ammoniaque R.P.	20 g
Aspirine	5 mg
Eau distillée qsp	1 litre

L'aspirine est ajoutée au diluant afin de tester le degré de sensibilité de l'appareil. Un décrochement perceptible de la ligne de base correspond à la détection de 0,5 γ/ml.

- Acide nitrique 0,5 N
- Sérum physiologique 9 g/l de chlorure de sodium
- Nitrate ferrique :

Nitrate ferrique R.P.	10 g
Acide nitrique R.P.	4 ml
Eau distillée qsp	1 litre

2°/ LES ANIMAUX UTILISES

2-1 Choix :

Les essais sont réalisés sur des lapins de race pure "Papillon" pesant trois à quatre kilos ou sur des chiens sans race pesant dix à quinze kilos.

2-2 Conditions opératoires :

Les animaux sont soumis à une diète hydrique durant les 24 heures précédant l'administration du produit. Ils sont mis en état d'hypocoagulation par administration d'anticoagulant coumarinique de synthèse

(Tromexane[®]) utilisé aux doses suivantes :

- Lapin : administration d'un comprimé par tubage gastrique une heure avant le prélèvement ;
- Chien : administration de deux comprimés 12 heures avant le prélèvement suivi de l'ingestion d'un comprimé 1 heure avant le prélèvement.

Dans les deux cas, si l'hypocoagulation n'est pas jugée suffisante, elle est accentuée par l'administration de légères doses d'héparine, ces doses étant variables selon l'hypocoagulation coumarinique obtenue.

En opérant de la sorte, nous avons obtenu des résultats satisfaisants. Les accidents hémorragiques ont été rares et facilement circonscrits par administration de vitamine K et de sulfate de protamine.

2-3 Prélèvements :

- Chez le lapin : le prélèvement de sang s'est effectué en introduisant dans la veine marginale d'une oreille, un fin cathéter[®] passant dans une aiguille de 11/10ème de mm de diamètre. L'extrémité distale du cathéter est reliée à la pompe proportionnante de l'auto-analyseur.

La volémie de l'animal est maintenue constante en perfusant du sérum physiologique dans la veine marginale de l'autre oreille, avec le même débit que celui du prélèvement (0,32 ml par mn).

- Chez le chien : le sang est prélevé par cathétérisme au niveau de la veine fémorale. Le volume sanguin étant considérable par rapport au volume du prélèvement, il n'est pas utile de perfuser du sérum physiologique, la volémie étant peu affectée par le prélèvement.

® Laboratoires GEIGY

® Cathéter P.E. 10 - Compagnie TECHNICON

L'immobilité des animaux est réalisée de façon classique en utilisant une boîte à contention pour le lapin (Fig. B) et une table à contention pour le chien.

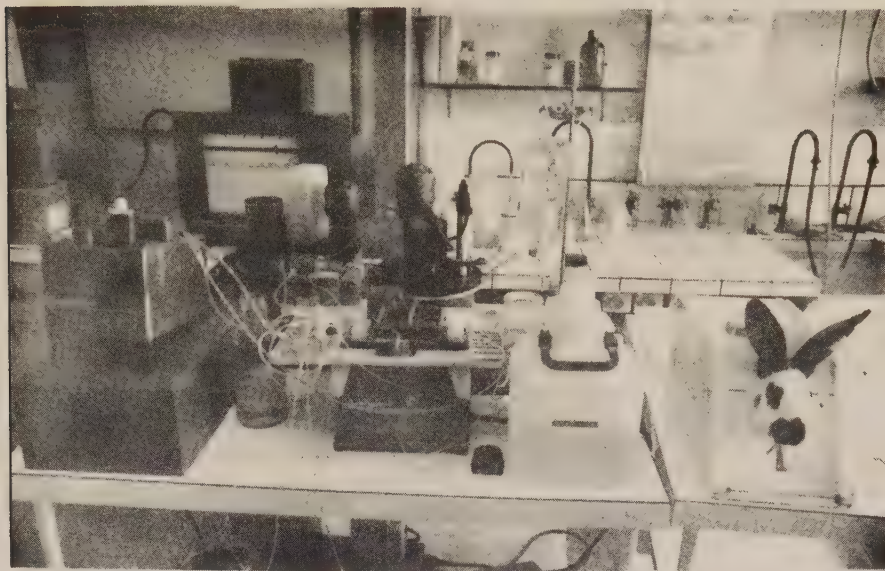


Figure B

Pour chaque essai, la dose d'aspirine, les conditions de son administration et la durée du prélèvement seront étudiées dans chaque chapitre.

CHAPITRE II

INFLUENCE DE LA TAILLE DES PARTICULES SUR L'ABSORPTION DE L'ASPIRINE

1°/ ETUDE IN VIVO

1-1 Conditions opératoires :

L'animal utilisé a été ici le lapin. Désirant suivre les variations de la salicylémie durant huit heures, nous avons été conduits à opérer sur deux animaux montés en parallèle, le prélèvement se faisant selon le schéma suivant :

- Lapin A : 0 à 2 heures après administration
- Lapin B : 2 à 4 heures après administration
- Lapin A : 4 à 6 heures après administration
- Lapin B : 6 à 8 heures après administration

Les animaux sont de même poids, et le produit leur a été administré en même temps, après vérification de leur ligne de base à l'auto-analyseur.

On peut de la sorte suivre la salicylémie en continu durant huit heures sur une courbe formée de quatre segments.

L'administration a été réalisée et facilitée par la mise en gélule n° 4 (nous avons vérifié sur un lapin sacrifié qu'une gélule de cette taille passe aisément dans l'oesophage de l'animal).

La dose utilisée est de 100 mg par kg, ce qui a imposé l'emploi de plusieurs gélules, le volume du produit étant assez important.

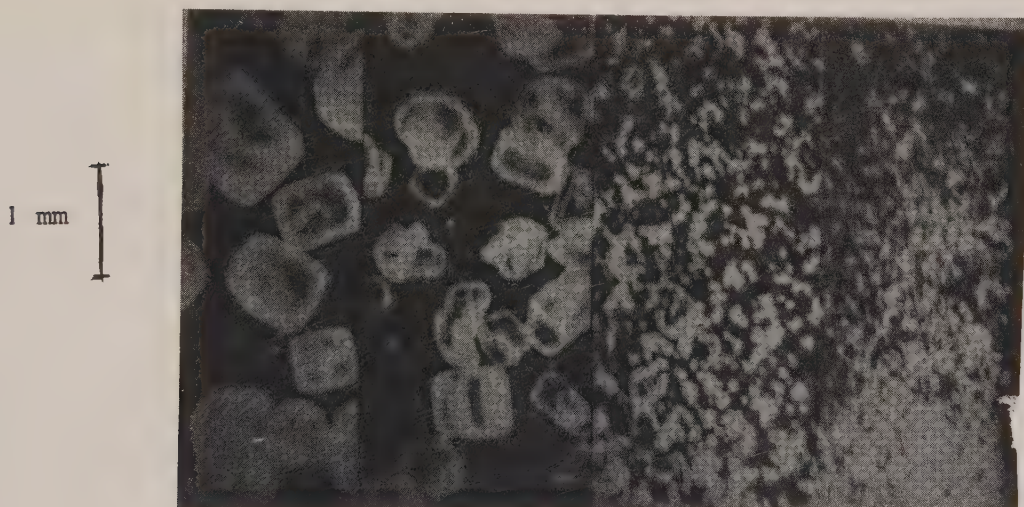
L'administration des gélules a été faite de la façon suivante :

- Un bâtonnet percé de trous de diamètre légèrement supérieur à celui de la gélule est placé entre les mâchoires de l'animal ;
- La gélule est placée dans l'un des orifices faisant face à l'oesophage de l'animal et poussée le plus profondément possible à l'entrée de la gorge ;
- Un léger filet d'eau est envoyé dans la gorge du lapin et déclenche un réflexe de déglutition qui entraîne la gélule.

Nous avons étudié l'absorption de l'aspirine administrée sous quatre granulométries ; celles-ci sont indiquées au tableau I.

Les macrophotographies ci-jointes (Fig. C) montrent les quatre états de divisions de l'aspirine utilisée :

. Photographies prises avec un soufflet Novoflex sur lequel est monté un objectif Schacht Macro Travenar 2,8/50 mm réglé pour obtenir le plus fort grossissement ; le film utilisé avait une sensibilité de 400 ASA.



Cristallisée
Codex

Rhodine

Moulinée

Ultra fine

Figure C

A la vue de ces clichés, plusieurs constatations peuvent être faites :

- L'aspirine cristallisée Codex présente des particules de grandes dimensions à peu près parallélipédiques et de taille relativement régulière.

- L'aspirine cristallisée Rhodine présente plusieurs sortes de particules dont les dimensions sont variées. Si l'on trouve des particules de taille égale à celle des cristaux précédents, on observe cependant qu'il y a un grand nombre de particules de taille moyenne.

- L'aspirine moulinée se présente sous la forme de petits cristaux de forme irrégulière, cette irrégularité de forme s'expliquant par le fait que cette qualité est obtenue par broyage de la Rhodine.

- L'aspirine ultra-fine se présente sous la forme de très fines particules peu perceptibles car elles tendent à s'agglomérer entre elles.

1-2 Résultats :

Les résultats obtenus sont représentés au tableau I. Les courbes de salicylémie obtenues sont réunies à la figure D. Elles montrent l'intervalle de confiance au risque 10 %. La figure E représente la comparaison entre les courbes de salicylémies obtenues. Enfin, aux tableaux II, III, IV et V, nous avons fait apparaître quelques chiffres afin de fournir des précisions sur l'ordre de grandeur des variances et des intervalles de confiance au risque 10 %. (chiffres fournis pour au moins six essais)

- Si l'on compare les deux formes cristallisées : cristallisée Codex et Rhodine, le délai d'apparition du produit dans le sang est équivalent (13 à 14 mn), ainsi que le temps d'obtention de la salicylémie maximale (128 et 135 mn). Mais les concentrations maximum sont très différentes : 241 γ /ml pour la forme de plus forte granulométrie et 140 γ /ml pour la forme de granulométrie moindre.

ASPIRINE	Module	Taille moyenne des particules (mm)	Délai d'apparition du produit dans le sang (mm)	Salicylémie maximum	
				Obtenue en (mm)	Valeur γ /ml
Cristallisée Codex	30	0,800	13 à 14	128	241
Cristallisée Rhodine	< 28	0,645	13 à 14	135	140
Aspirine moulinée	< 26	0,095	7,5	86	95
Aspirine extra-fine	< 24	0,024	24	190	165

TABLEAU I

Il faut noter ici que la forme cristallisée Codex présente une plus grande régularité dans sa granulométrie que la "Rhodine".

Dans les deux cas, la concentration maximale se maintient constante durant huit heures après administration.

- Si l'on examine les résultats obtenus avec les formes pulvérisées :

- L'aspirine moulinée donne une concentration maximale atteinte rapidement (86 mn) et se maintient également constante durant les huit heures du prélèvement, mais sa valeur est faible (95 γ /ml) ;

- L'aspirine ultra-fine donne une salicylémie maximale élevée (165 γ /ml), mais cette valeur est atteinte tardivement (190 mn) et elle ne se maintient pas constante : au bout des huit heures de prélèvement, la salicylémie est tombée à 113 γ /ml. Nous avons ici l'aspect d'une courbe en cloche.

- Après 18 heures, les formes cristallisées donnent une salicylémie d'environ 30 γ /ml, alors que l'essai est négatif avec les formes pulvérisées.

1-3 Interprétation des résultats :

À la vue de ces résultats, on voit que l'absorption semble fonction de la dimension des particules, du moins pour les qualités cristallisée Codex, cristallisée Rhodine et moulinée : en effet, la salicylémie maximale augmente avec la dimension des particules, alors que la vitesse d'absorption est à peu près inversement proportionnelle à ces mêmes dimensions.

Contre toute attente, l'aspirine ultra fine n'est pas absorbée selon les prévisions. En effet, elle s'intercale entre les autres, se manifestant par un temps d'apparition dans le sang élevé (24 mn) et un temps d'obtention de la salicylémie maximale très long (190 mn).

Il nous a semblé logique d'attribuer cette anomalie au fait que cette aspirine ultra fine, donc très divisée, est difficilement mouillable, donc solubilisée et absorbée avec retard. Mais, une fois le phénomène amorcé, il irait en s'accélégrant.

2°/ ETUDE IN VITRO

Afin de vérifier l'hypothèse de la mouillabilité, nous avons procédé à des études de dissolution in vitro pour chacune des variétés d'aspirine.

2-1 Mode opératoire :

Nous avons suivi en continu, grâce à l'auto-analyseur, la dissolution de 0,5 gramme d'aspirine dans deux litres d'eau.

La photographie F montre le dispositif que nous avons utilisé.

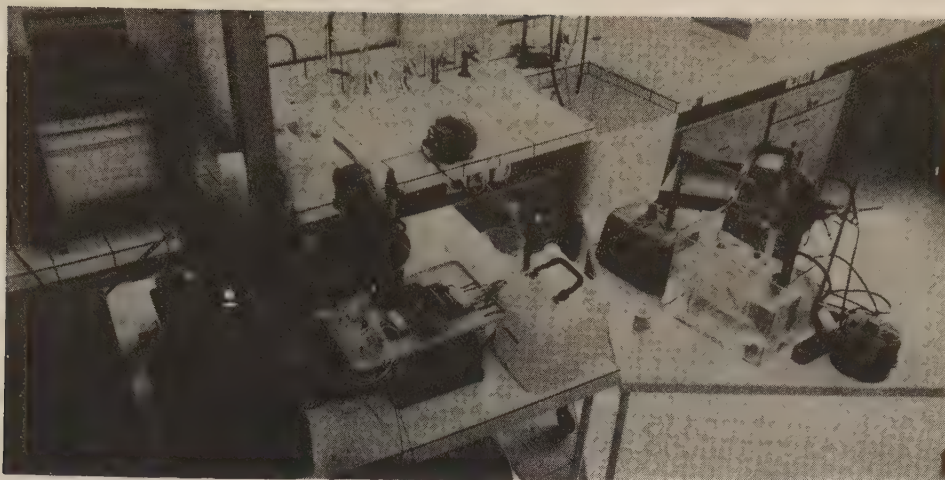


Figure F

Les produits sont répartis dans deux gélules n° 3 placées dans un sachet de papier de type infusette, afin que l'aiguille de prélèvement ne puisse intercepter de particules solides.

Ce sachet est lesté et suspendu à la potence d'un appareil à dé-litement ERWEKA qui lui imprime un mouvement alternatif vertical.

Le sachet plonge dans un bécher contenant deux litres d'eau distillée fraîchement préparée et dont le pH est de 4.

La température de l'eau est maintenue constante grâce à l'utilisation d'un bain-marie thermostaté à 37°C.

La quantité d'eau utilisée pour le dosage est régénérée par une arrivée d'eau distillée avec le même débit que le prélèvement (0,32 ml/mn).

Le prélèvement et l'arrivée de l'eau se font en des points diamétralement opposés.

L'essai dure 3 heures ; au bout de ce temps, le volume de l'eau est mesuré afin d'apprécier l'importance de l'évaporation ayant pu se produire. En aucun cas, l'évaporation n'a pu être supérieure à 40 ml, ce qui provoque des variations de concentration d'au plus 5 γ/ml.

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINES PURES
A DIFFERENTES GRANULOMETRIES

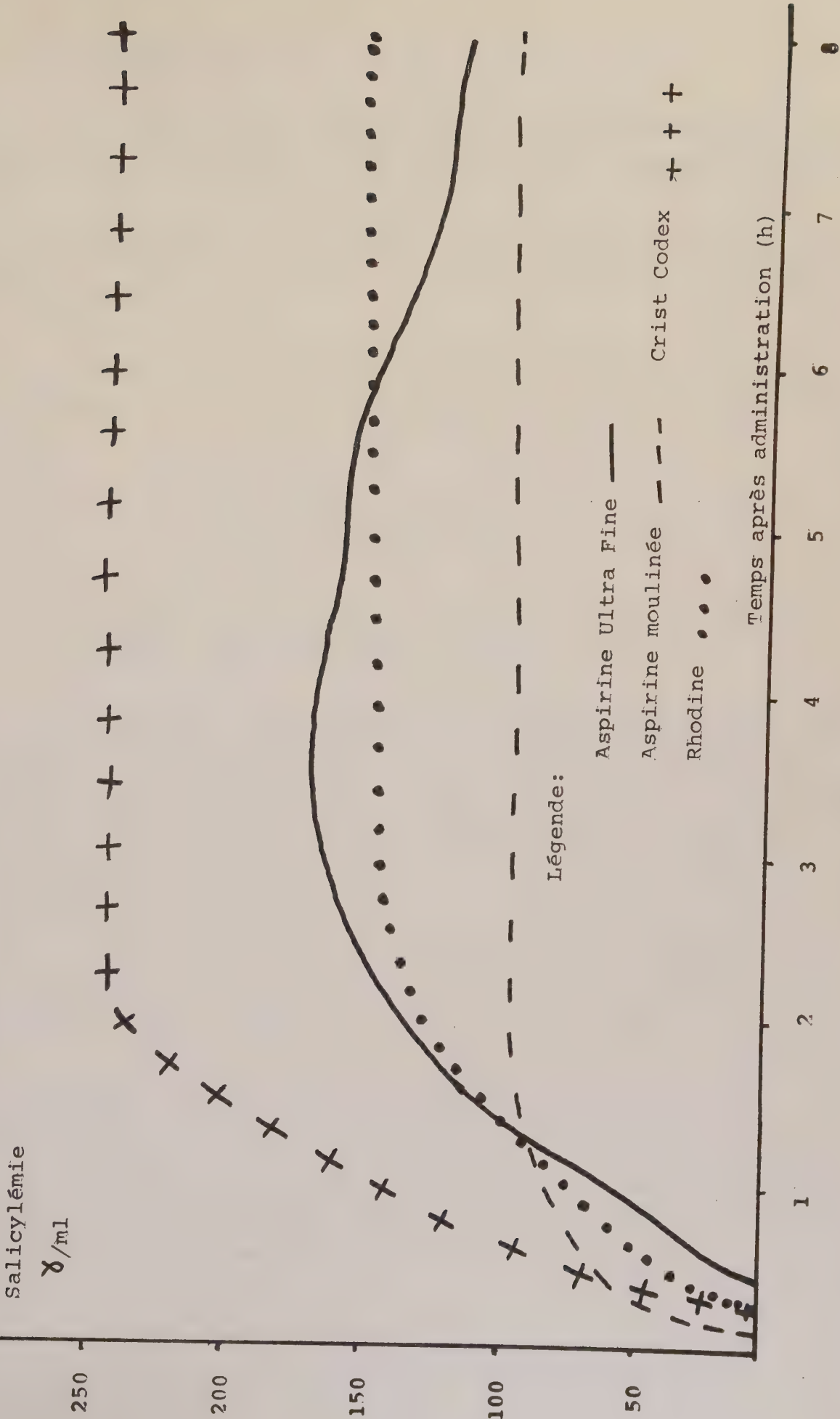


Figure E

2-2 Résultats :

Dans tous les cas, la gélule libère son contenu en moins de trois minutes (temps correspondant au délai d'apparition de l'aspirine dans l'eau).

Les courbes de solubilisation sont présentées à la figure G. A la vue de ces courbes, on constate que la vitesse de dissolution est fonction de la taille des particules.

Si on classe les variétés d'aspirine en fonction de leurs vitesses de dissolution, on trouve, de la plus rapide à la plus lente :

1. - Aspirine moulinée
2. - Aspirine cristallisée Rhodine
3. - Aspirine cristallisée Codex

La qualité ultra fine vient s'intercaler entre les variétés moulinée et cristallisée Rhodine, tout comme dans le cas de l'in vivo.

Le fait que la qualité ultra fine se dissolve moins rapidement que la qualité moulinée peut être attribué à une difficulté de mouillage. Afin de le démontrer, nous avons effectué un nouvel essai en ajoutant 2 grammes de tensio actif (Polysorbate 80) dans l'eau. La comparaison des courbes obtenues est faite à la figure H et montre bien l'effet de la mouillabilité sur la dissolution de la poudre fine.

Le même essai effectué avec l'aspirine cristallisée Codex n'a pas montré de changement dans la vitesse de dissolution, ce qui confirme que la difficulté de mouillage n'affecte que les poudres très fines.

3°/ COMPARAISON DISSOLUTION IN VITRO ET ABSORPTION IN VIVO

Afin de comparer les résultats obtenus dans chaque cas, nous avons utilisé des paramètres nous permettant de définir la dissolution d'une part et l'absorption d'autre part.

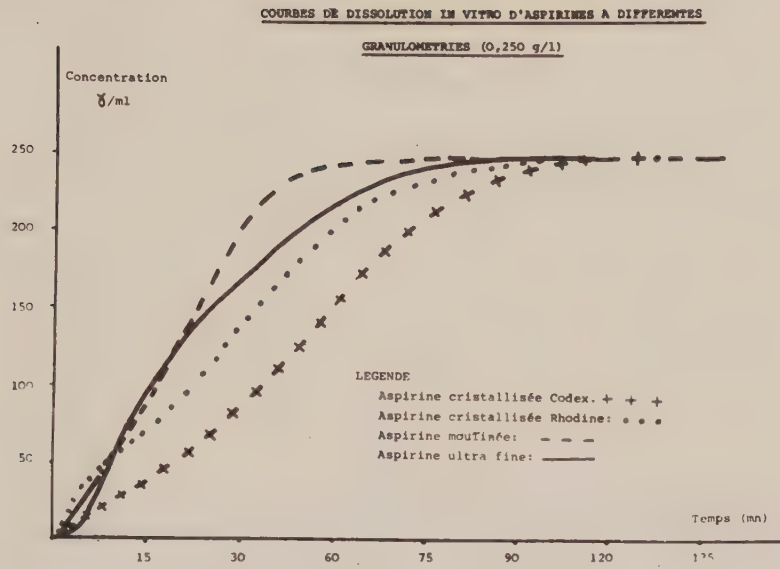


Figure G

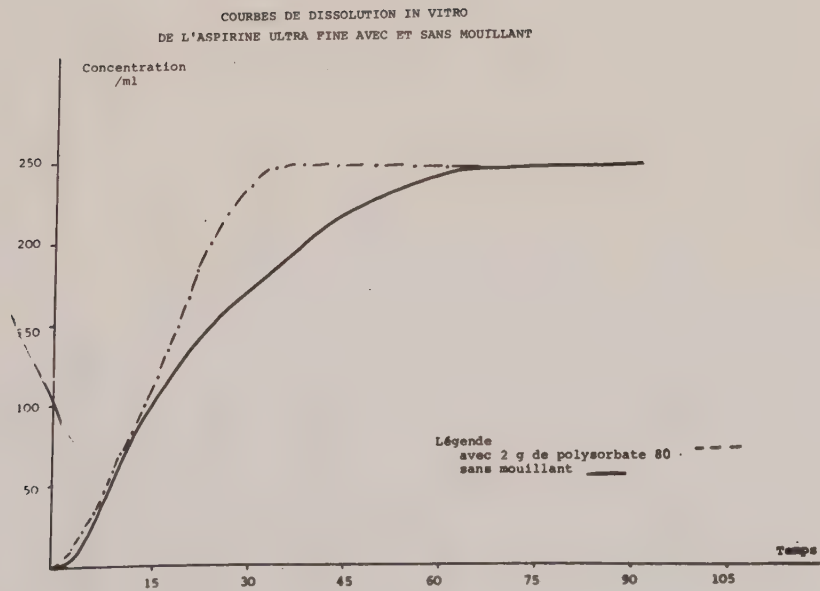


Figure H

DISSOLUTION IN VITRO

VARIÉTÉ D'ASPIRINE	Temps de dissolution complète (mm)	Temps d'obtention de 50 γ /ml (mm)	Pente à 100 γ /ml
Cristallisée Codex	115	24	4,5
Cristallisée Rhodine	95	12	5
Moulinée	75	11	8,5
Ultra fine	90	10	7
Ultra fine + 2 g tensio actif	35	8	10

TABEAU VI

.....

ABSORPTION IN VIVO

VARIÉTÉ D'ASPIRINE	Temps d'obtention de la salicylémie max. (mn)	Temps d'obtention de 50 γ /ml (mn)	Pente à 1'origine
Cristallisée Codex	128	25	10
Cristallisée Rhodine	135	50	3,5
Moulinée	86	20	20
Ultra fine	190	60	1,75

TABEAU VI

A cet effet, nous comparerons :

- Le temps mis pour dissoudre totalement le produit avec le temps mis pour obtenir la salicylémie maximale in vivo ;
- Les temps mis pour atteindre une concentration de 50 γ /ml dans l'eau et dans le sang ;
- La vitesse d'absorption (définie par la tangente à l'origine de la courbe de salicylémie) et la vitesse de dissolution. Dans cette dernière mesure, nous nous sommes heurtés à une difficulté lors de la détermination de la tangente à l'origine de la courbe de dissolution. En effet, les courbes de dissolution présentent des points d'inflexion dans leur première partie. Aussi, avons-nous arbitrairement choisi de définir la vitesse de dissolution par la tangente à la courbe où l'accroissement de concentration se fait de façon régulière, ce qui se produit lorsque la concentration atteint 100 γ /ml.

Les chiffres obtenus sont donnés dans le tableau VI.

A la vue de ces résultats, on constate que :

- L'aspirine cristallisée Codex : s'absorbe relativement rapidement, mais se dissout lentement. La mauvaise solubilité semble être due à la grosseur des particules. Mais cette même grosseur semble jouer un rôle bénéfique dans l'absorption en favorisant la répartition uniforme de l'aspirine dans le tractus gastro intestinal.

- L'aspirine cristallisée Phodine : se dissout et s'absorbe lentement. On peut voir à ces mêmes effets une même cause, l'irrégularité de la taille des particules de cette variété.

- L'aspirine moulinée : s'absorbe et se dissout rapidement, ce qui est conforme aux prévisions.

- L'aspirine ultra fine : son absorption est lente et sa dissolution n'est pas aussi rapide que ce que l'on pouvait attendre. On peut voir à ces mêmes effets une même cause : la difficulté de mouillage.

Il semble donc que :

- La régularité de la taille des particules est un facteur favorable dans l'absorption des particules. Cet effet peut s'expliquer par la répartition uniforme du principe actif dans le tractus gastro-intestinal ;
- Une trop grande division peut être nuisible à l'absorption du principe actif par le fait que le produit présenté ici en gélules se mouille difficilement et sa répartition ainsi que sa dissolution dans le tractus gastro-intestinal, se trouvent alors inhibées.

L'allure des courbes de salicylémie montre que dans le cas des aspirines cristallisées et moulinées, tout se passe comme si l'organisme de l'animal absorbait une dose initiale donnant une salicylémie plus ou moins importante selon la vitesse d'absorption. La concentration maximale s'est maintenue constante par absorption de doses répétées représentées par les cristaux et les particules de la poudre.

RESULTATS STATISTIQUES

- ASPIRINE CRISTALLISEE CODEX -

Temps en (mn)	Salicylémie moyenne	Variance	Intervalle de confiance au risque de 10 %	
			Limite sup.	Limite inf.
15	10	50	41	- 21
30	73	608	114	31
60	141	1 308	202	80
120	235	200	298	171
180	241	1 406	285	197
480	241	1 406	285	197

TABLEAU II

Délai d'apparition :

Moyenne : 13,25

Variance : 0,25

Limites : - Sup. 13,83

- Inf. 12,67

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 127,75

Variance : 140

Limites : - Sup. 141,7

- Inf. 113,8

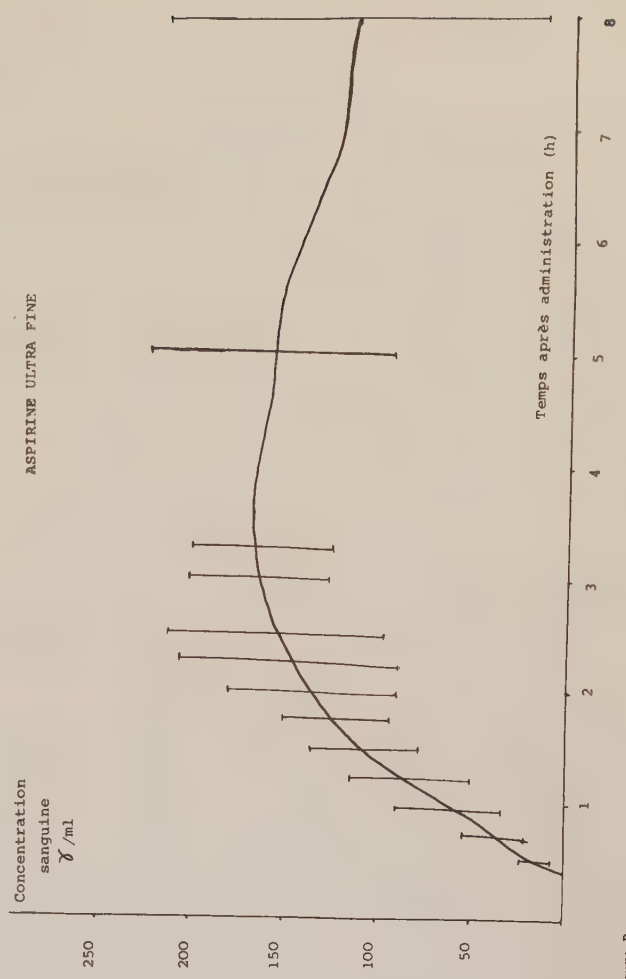
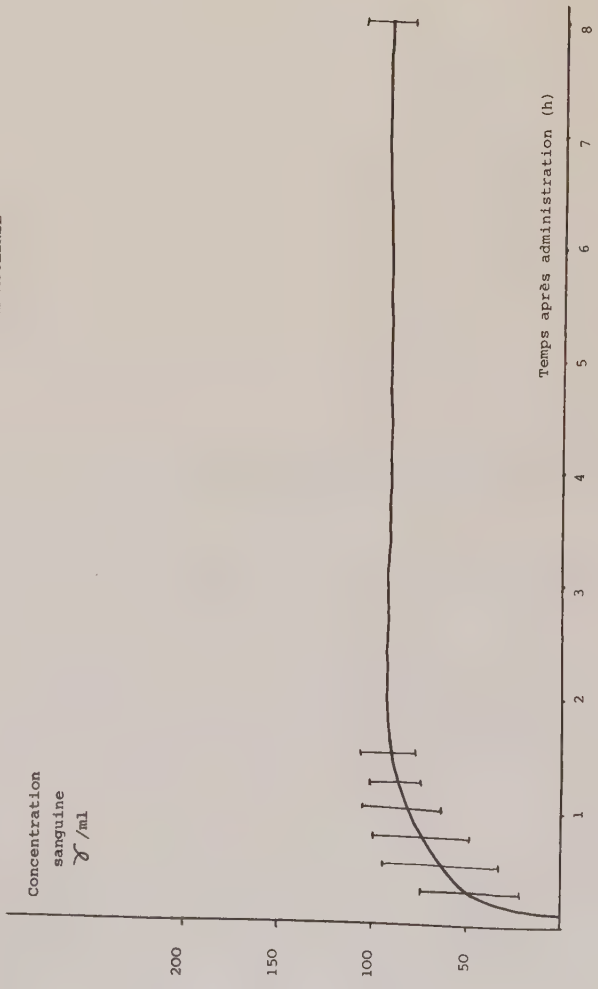
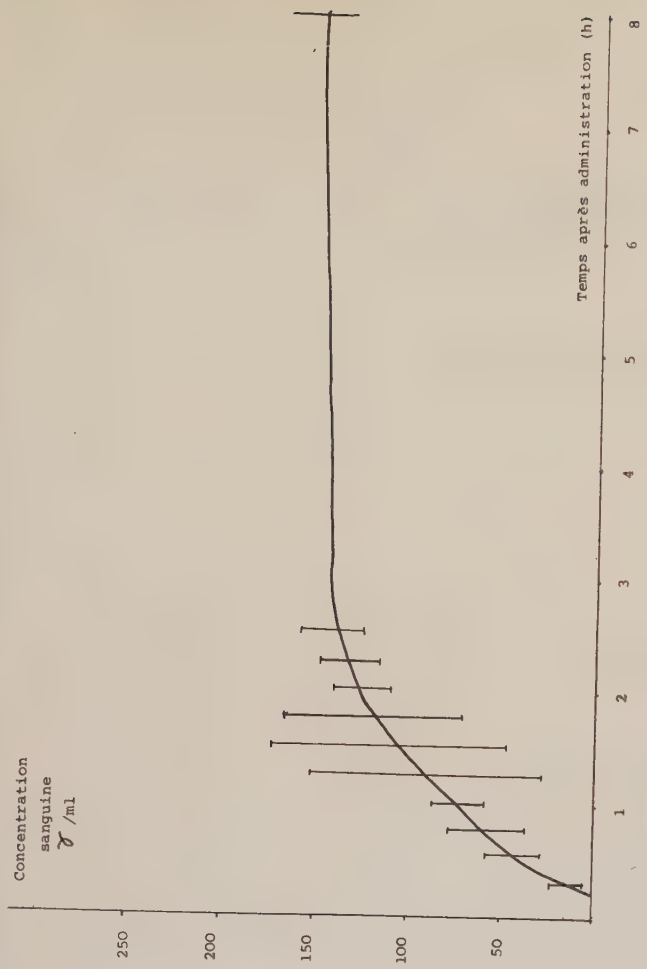
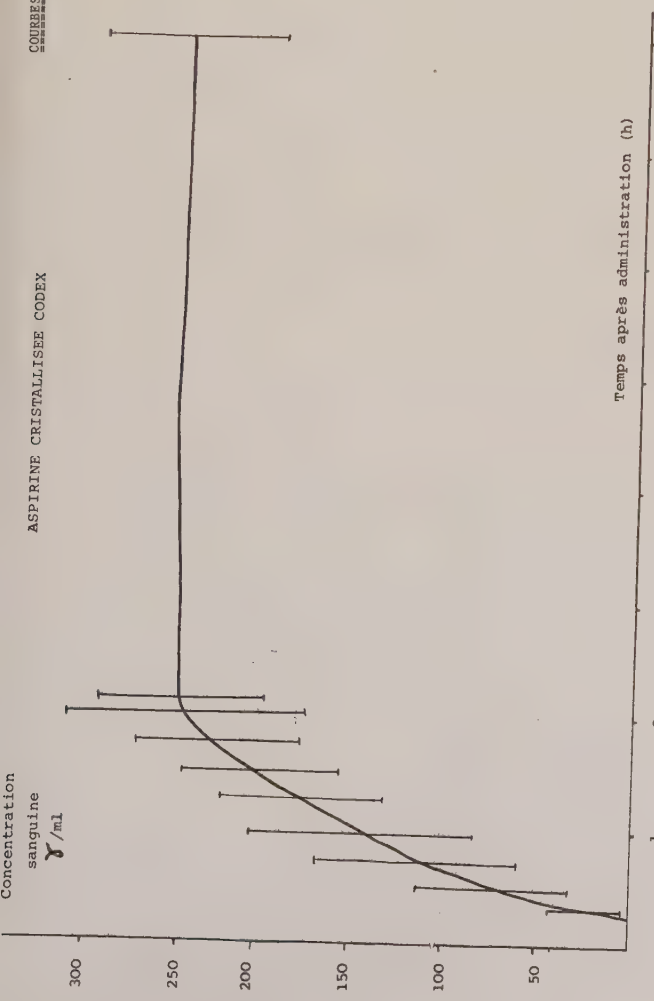


Figure D

RESULTATS STATISTIQUES

- ASPIRINE CRISTALLISEE "PHODINE" -

Temps en (mn)	Salicylémie moyenne	Variance	Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	12	312	91	- 66
30	42	12	58	26
60	72	12	88	56
120	127	112	143	80
180	140	12	156	134
480	140	12	156	134

TABLERAU III

Délai d'apparition du produit
dans le sang :

Moyenne : 13,5

Variance : 4,5

Limites : - Sup. 22

- Inf. 4

Temps d'obtention du taux maximum :

Moyenne : 135

Variance : 50

Limites : - Sup. 166

- Inf. 103

RESULTATS STATISTIQUES

- ASPIPINE MOULINEE -

Temps en (mn)	Salicylémie moyenne	Variance	Intervalle de confiance au risque de 10 %	
			Limite sup.	Limite inf.
15	48	233	74	22
30	63	308	92	33
60	86	158	107	65
120	95	58	105	185
180	95	58	105	185
480	95	58	85	105

TABLÉAU IV

Délai d'apparition :

Moyenne : 7,5

Variance : 6,34

Limites : - Sup. 11,75
- Inf. 3,75

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 86

Variance : 533

Limites : - Sup. 12,5
- Inf. 47

RESULTATS STATISTIQUES- ASPIRINE ULTRA FINE -

Temps en (mn)	Salicylémie moyenne	Variance	Intervalle de confiance au risque de 10 %	
			Supérieure	Inférieure
15	0	0	0	0
30	16	8	21	11
60	64	767	90	37
120	131	1 256	172	89
180	164	533	202	124
480	113	502	178	47

TABLEAU V

Délai d'apparition :

Moyenne : 24

Variance : 27

Limites : - Sup. 29

- Inf. 19

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 190

Variance :

Limites : - Sup. 204

- Inf. 156

CHAPITRE III

=====

ETUDE DE L'INFLUENCE D'ENROBAGES

Les ulcérations gastriques provoquées par l'aspirine ont conduit à protéger la muqueuse en enveloppant le produit dans un film de substances stables et insolubles en milieu gastrique ; cet enrobage pouvant secondairement conduire à des formes à action prolongée.

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence de divers enrobages sur l'absorption de l'aspirine (23-51-141-262-263). Notre expérience en ce domaine a porté sur deux types d'enrobages :

- Enrobage par un corps gras : le Précir[®]ol,
- Enrobage par micro encapsulation à l'aide d'éthyl cellulose.

1°/ ETUDE DE L'ENROBAGE PAR LE PPECIPOL

1-1 Conditions opératoires :

L'animal utilisé a été le lapin dont la salicylémie a été suivie selon le même schéma qu'au chapitre II.

Nous avons enrobé les différentes variétés d'aspirine que nous avons employées lors des essais précédents.

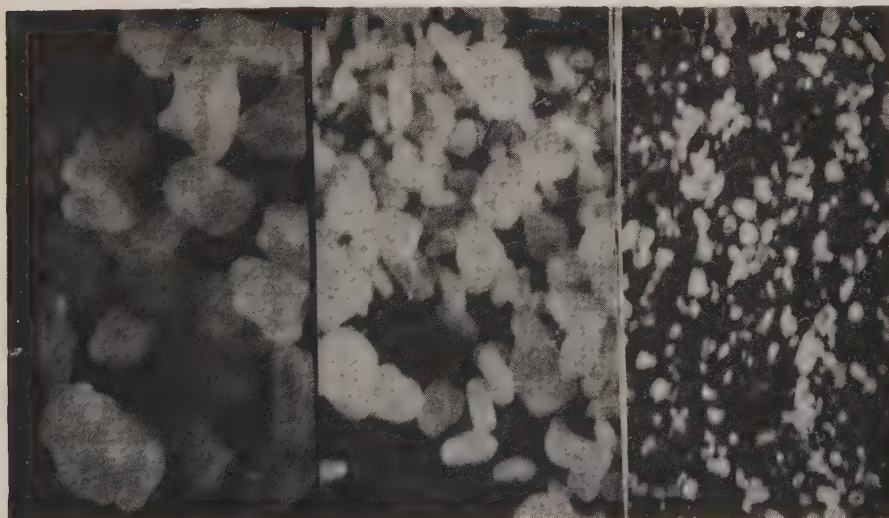
L'enrobage s'est effectué en brassant vivement au mélangeur planétaire et en ajoutant aux cristaux en mouvement de petites quantités de Précir[®]ol solubilisé dans le minimum d'alcool chaud. Le principal problème

était d'éviter la dissolution de l'aspirine dans l'alcool. Ceci a été évité en incorporant des portions de solution d'enrobage juste nécessaires à l'humectation de la poudre et en accélérant l'évaporation de l'alcool par séchage à l'air chaud.

Le Préciról est un ester, mono, di et tripalmito stéarique du glycérol. Il se présente sous l'aspect d'une masse dure, blanche, pratiquement inodore, fondant à $52^{\circ} - 55^{\circ}$. Il est soluble dans l'éther, le benzène et l'alcool iso propylique, partiellement soluble dans l'alcool éthylique et insoluble dans l'eau.

Nous avons pu de la sorte enrober l'aspirine avec 10 et 40 g de Préciról pour 100 g. Mais des difficultés techniques nous ont interdit d'enrober la qualité ultra fine avec 10 % et 40 % ainsi que la qualité moulinée avec 40 %.

Les macrophotographies suivantes (Fig. I) montrent les différentes qualités d'aspirines enrobées par 10 % de Préciról (photos prises dans les mêmes conditions que précédemment).



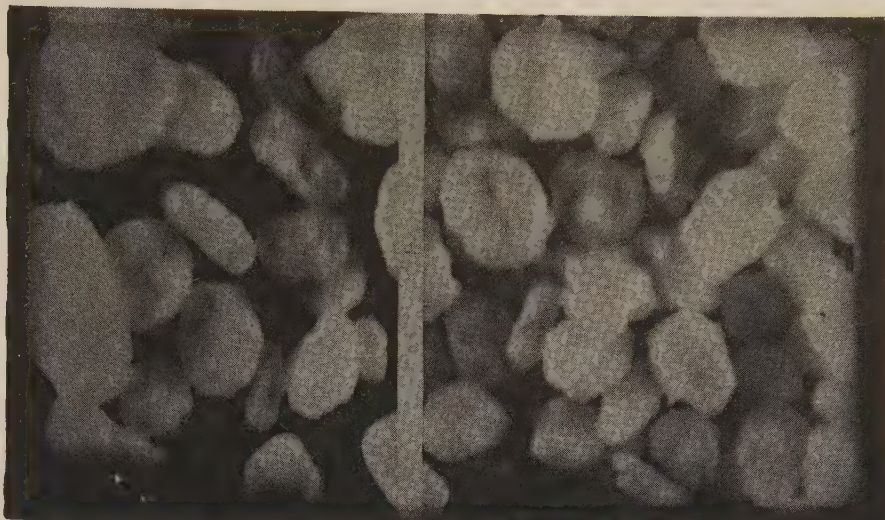
Crist. Codex

Rhodine

Moulinée

FIGURE I

Les clichés suivants (Fig. J) montrent l'aspirine enrobée par 40 % de Préciröl.



Cristallisée Codex

Rhodine

FIGURE J

L'examen de ces photographies montre l'aspect blanc et opaque des poudres enrobées par le Préciröl. L'enrobage paraît être assez uniforme et régulier, les cristaux apparaissent avec des arêtes moins vives et leur forme, notamment pour l'enrobage à 40 %, paraît être plus sphérique. Ceci peut être dû d'une part à la présence de la pellicule grasse et d'autre part à l'usure provoquée par les frottements dus à l'agitation.

L'enrobage par 10 % de matière grasse n'a pas notablement modifié la taille des particules, alors que l'enrobage par 40 % l'a notablement augmenté, l'épaisseur de l'enrobage étant devenue très importante.

Nous avons administré aux animaux une dose de 100 mg/kg en aspirine, le produit étant réparti en gélules n° 4. L'administration a été faite de la même façon qu'au chapitre II.

RESULTATS OBTENUS AVEC LES ASPIRINES A DIFFERENTS MODULES
ENROBEES PAR 10 % DE PRECIROL[®]

ASPIRINE	Module	Délai d'apparition du produit dans le sang (mn)	Taux maximum	
			Valeur	Obtenue en (mn)
Cristallisée Codex	30	8	200	123
Cristallisée Rhodine	< 28	26	195	89
Moulignée	< 26	14,5	158	88

TABIEAU VII

1-2 Résultats :

1-2-1 Enrobage par 10 % de Précirol :

Les résultats obtenus sont indiqués au tableau VII. Les courbes de salicylémie pour chaque produit sont représentées dans la figure K, nous les avons rapprochées pour les comparer à la Figure L.

Ces résultats sont les moyennes statistiques d'essais pratiqués sur au moins six animaux pour chaque produit. Les tableaux VIII, IX et X donnent pour quelques points une estimation de la variance et de l'intervalle de confiance au risque 10 %.

L'examen de ces résultats montre que :

1°/ Les délais d'apparition du produit dans le sang sont différents pour chaque granulométrie :

Cristallisée Codex.....	8 mn
Cristallisée Rhodine....	26 mn
Moulignée.....	14,5 mn

2°/ Les concentrations maximales sont voisines. La forme cristallisée la moins divisée donnant la salicylémie la plus élevée :

Cristallisée Codex.....	200/ml
Cristallisée Rhodine....	195/ml
Moulignée.....	158/ml

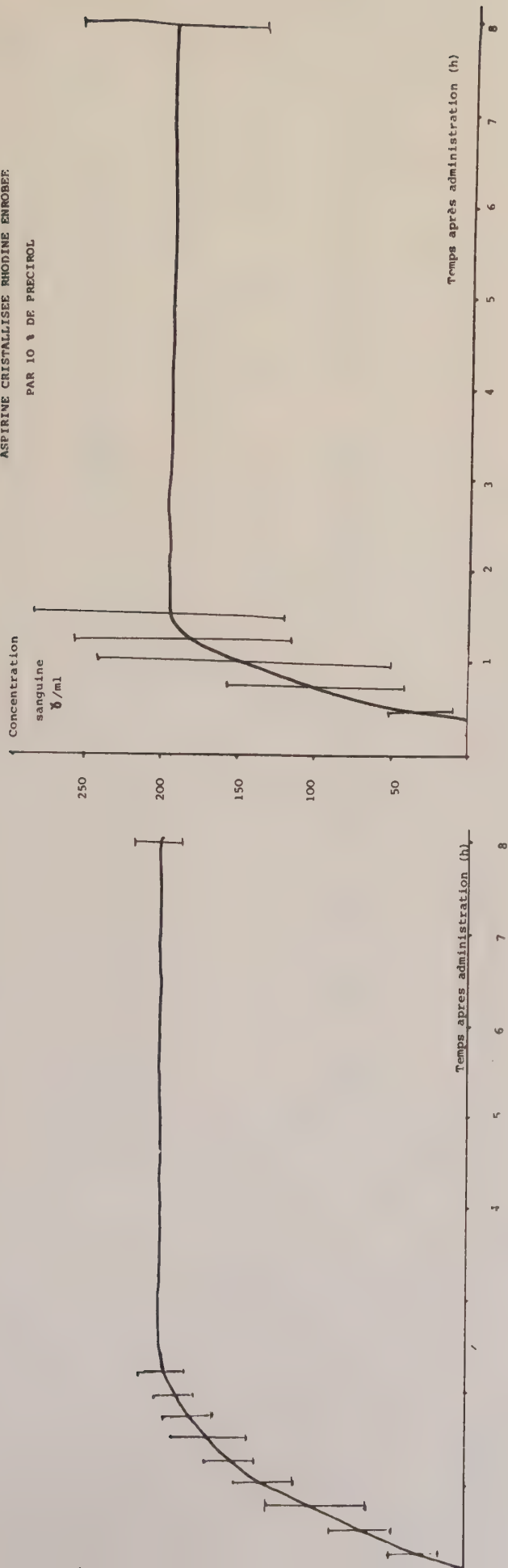
3°/ Les temps d'obtention des salicylémies maximales sont également voisins :

Cristallisée Codex.....	120 mn
Cristallisée Rhodine....	89 mn
Moulignée.....	88 mn

1-2-2 Enrobage par 40 % de Précirol[®] :

Les résultats obtenus sont indiqués au tableau XI. Les courbes de salicylémie obtenues pour chaque produit sont représentées à la figure M. Nous les avons rapprochées pour les comparer à la figure N. Ces résultats sont également les moyennes statistiques d'essais pratiqués sur 6 animaux.

ASPIRINE CRISTALLISEE RHODINE ENROBEE
PAR 10 % DE PRECIROL



ASPIRINE MOULINEE ENROBEE PAR 10 % DE PRECIROL

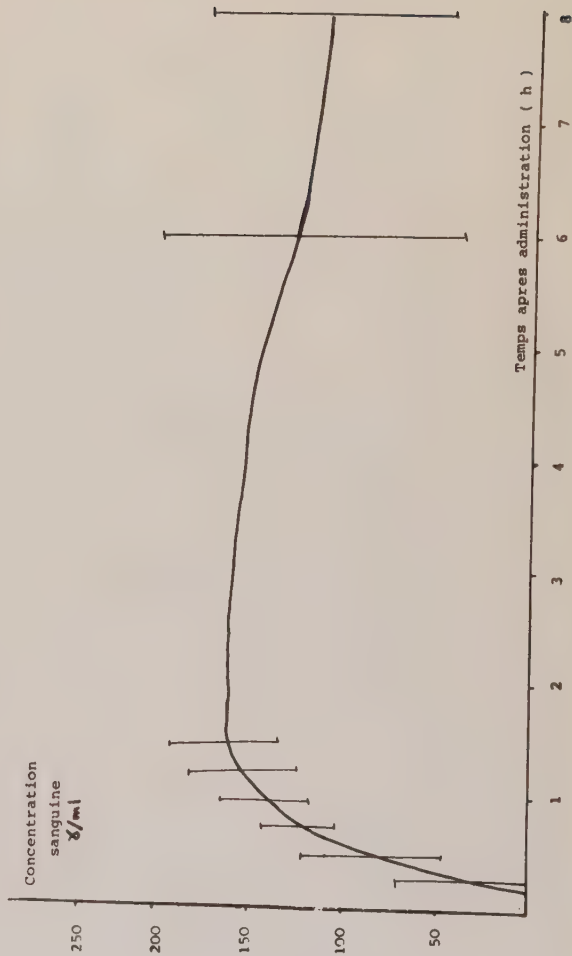


Figure 1 : COURSES STATISTIQUES

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINE A DIFFERENTES
GRANULOMETRIES ENROBEE PAR 10% DE PRECIROL

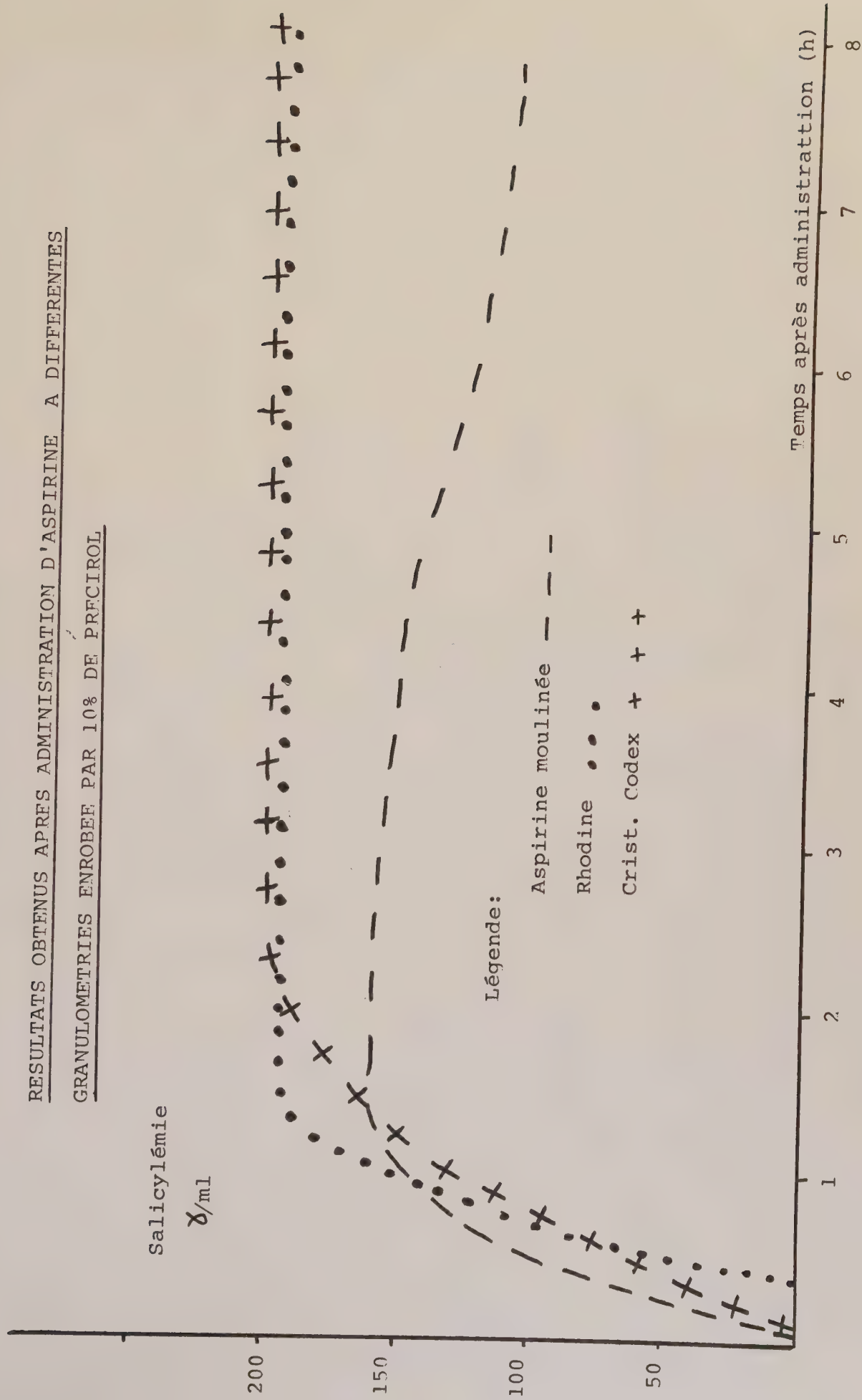


Figure L

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINE A DIFFERENTES
GRANULOMETRIES EUROPEE PAR 40% DE PRECIROL

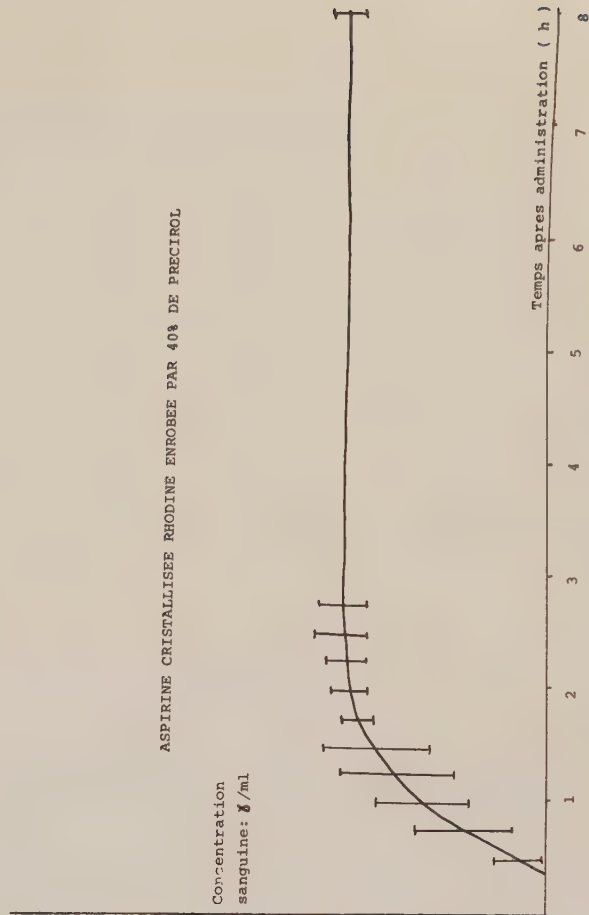
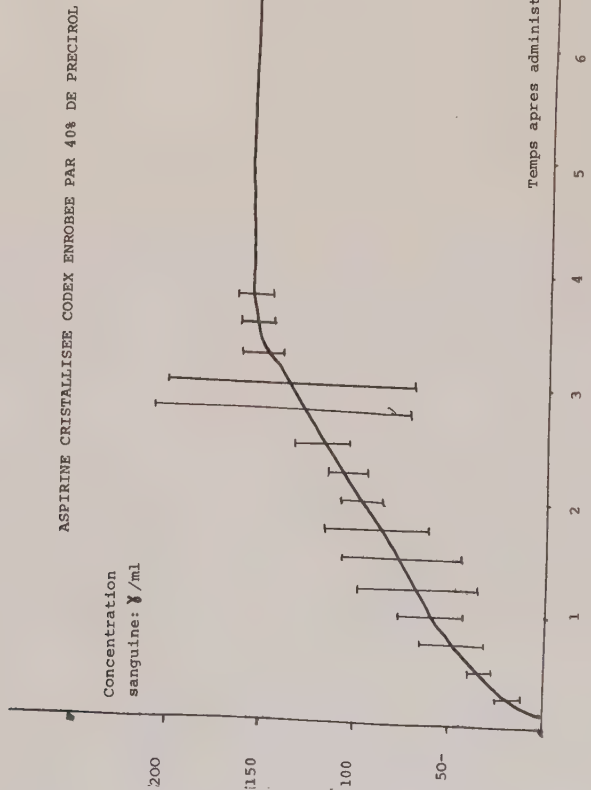
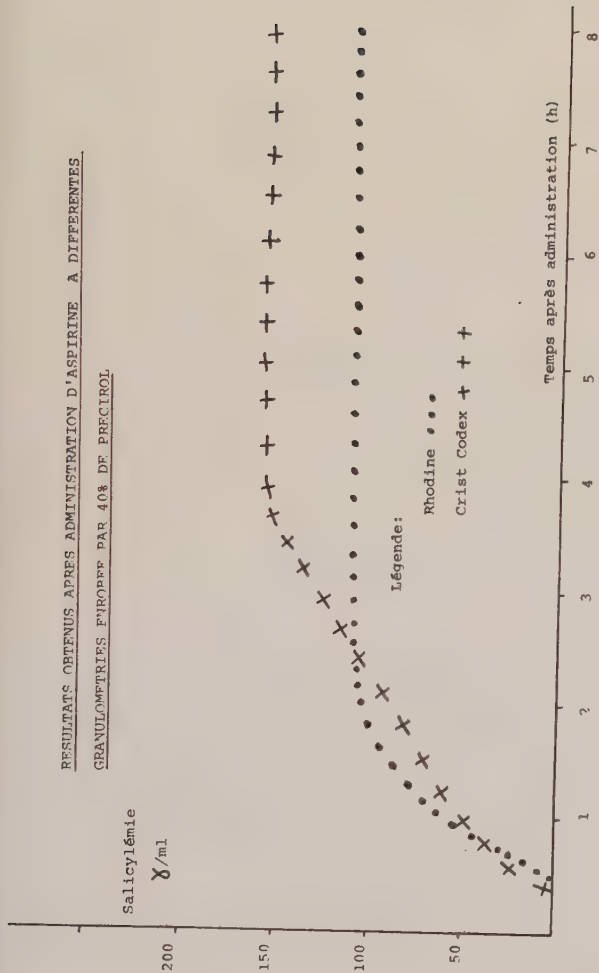


Figure M

Les tableaux XII et XIII donnent pour quelques points une estimation de la variance et de l'intervalle de confiance au risque 10 %.

Au vu de ces résultats, on constate que :

- Les délais d'apparition dans le sang sont très voisins :

. Cristallisée Codex.....	28 mn
. Rhodine.....	30 mn

- Les concentrations sanguines maximum sont légèrement différentes, mais du même ordre :

. Cristallisée Codex.....	154 γ /ml
. Rhodine.....	110 γ /ml

- Les temps d'obtention de ces concentrations sont très différents :

. Cristallisée Codex.....	205 mn
. Rhodine.....	120 mn

1-3 Interprétation des résultats :

Si l'on rapproche les résultats obtenus avec les aspirines pures et les aspirines enrobées (Tableau XI) on constate que les salicylémies maximales très diversifiées pour les aspirines pures sont uniformisées pour les aspirines enrobées. Ceci pourrait être expliqué par le fait que le Précirol enrobant les poudres avec une épaisseur diminuant avec la taille des particules est hydrolysé par l'organisme avec une vitesse qui règle l'absorption du produit : on peut penser que l'aspirine est libérée de la forme galénique sous laquelle elle est présentée avec une vitesse constante quelle que soit sa granulométrie. Ceci semble être confirmé par la relative uniformité des temps d'obtention de la salicylémie maximale obtenue avec chaque aspirine enrobée par 10 % de Précirol.

Il convient de noter que le délai d'apparition dans le sang de la qualité cristallisée Codex enrobée avec 10 % de Précirol est notablement diminué. On pourrait voir la cause de ce phénomène dans une altération des cristaux due aux chocs et à l'usure provoquée par le brassage lors de l'enrobage.

	Délai d'apparition (mn)	Salicylémie maximale γ /ml	Obtenue en (mn)
ASPIRINES PURES			
Cristallisée Codex	13 à 14	241	128
Rhodine	13 à 14	140	135
Moulinée	8	95	86
ENROBEES 10 %			
Cristallisée Codex	10	200	123
Rhodine	26	195	89
Moulinée	14,5	158	88
ENROBEES 40 %			
Cristallisée Codex	28	154	205
Rhodine	30	110	120

TABLEAU XI

Dans le cas de l'enrobage à 40 %, les délais d'apparition dans le sang ont peu varié, mais les salicylémies maximales sont notablement abaissées, alors que le temps de leur obtention est considérablement augmenté : tout se passe comme si l'organisme avait des difficultés à hydrolyser la pellicule grasse devenue alors très importante.

Il faut noter de plus que le Précirrol, jouant le rôle de liant à sec, provoque l'agglomération des poudres en masse relativement compacte dans la gélule

Ces résultats montrent bien que l'effet d'un enrobage n'est pas prévisible à priori et que s'il peut être bénéfique dans un cas, il peut ne pas l'être dans un autre en contrariant l'absorption du principe actif. D'où l'intérêt de vérifier cet effet par des contrôles in vivo, l'expérimentation sur l'animal permettant de corriger des imperfections provenant uniquement de l'utilisation de quantités trop importantes de produits enrobants.

RESULTATS STATISTIQUES OBTENUS AVEC L'ASPIRINE
CRISTALLISEE CODEX ENPOBEE PAR 10 % DE PRECIROL

Temps	Salicylémie moyenne	Variance	Intervalle de confiance Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	30	75	44	15
30	60	75	74	45
60	131	133	151	112
120	193	33	203	183
180	200	100	216	183
480	200	100	216	183

TABLEAU VIII

Délai d'apparition :

Moyenne : 8

Variance : 8

Limites : - Sup. 10,9
- Inf. 6

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 123

Variance : 206

Limites : - Sup. 140
- Inf. 106

RESULTATS STATISTIQUES
ASPIRINE CRISTALLISEE PHODINE ENROBEE
PAR 10 % DE PRECIPOL

Temps	Salicylémie moyenne	Variance	Intervalle de confiance Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	0	0	0	0
30	30	1 800	219	- 159
60	105	200	168	41
120	195	450	289	100
480	195	450	289	100

TABLEAU IX

Délai d'apparition :

Moyenne : 26

Variance : 72

Limites : - Sup. 63
- Inf. 0

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 89

Variance : 2

Limites : - Sup. 95
- Inf. 82

RESULTATS STATISTIQUES
ASPIRINE MOULINEE ENPOBEE PAR 10 % DE PRECIROL

Temps	Moyenne	Variance	Intervalle de confiance Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	26'	633	69	- 15
30	78	408	112	44
60	138	372	161	116
120	158	482	169	146
180	158	482	169	146
480	158	482	169	146

TABLEAU X

Délai d'apparition :

Moyenne : 14,6

Variance : 14,3

Limites : - Sup. 21

- Inf. 8

Temps d'obtention de la salicylémie
maximale :

Moyenne : 88

Variance : 44

Limites : - Sup. 91

- Inf. 84

RESULTATS STATISTIQUES
ASPIRINE CRISTALLISEE CODEX
ENROBEE PAR 40 % DE PPECIPOL

Temps	Moyenne	Variance	Intervalle de confiance Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	23	8	28	18
30	35	25	43	26
60	65	100	81	48
120	103	33	113	93
180	140	200	203	76
480	154	117	164	143

TABLEAU XII

RESULTATS STATISTIQUES
ASPIRINE CRISTALLISEE PHODINE
ENROBEE PAR 40 % DE PRECIROL

Temps	Moyenne	Variance	Intervalle de confiance Limites	
			Supérieure	Inférieure
15	0	0	0	0
30	16	58	29	3
60	46	233	72	20
120	108	107	117	98
180	111	106	123	99
480	111	106	123	99

TABLEAU XIII

2° / ESSAIS PORTANT SUR L'ASPIRINE MICRO ENCAPSULEE

L'intérêt de la méthode de micro encapsulation pour obtenir des formes retardées nous a poussé à étudier une forme d'aspirine commerciale se présentant en cristaux encapsulés dans de l'éthyl cellulose. Par comparaison, nous avons étudié la salicylémie obtenue avec une autre aspirine commerciale présentée sous forme classique non enrobée.

L'animal choisi était le chien (Fig. 0) car nous devions éviter chez l'animal de laboratoire la présence de cellulase (des essais antérieurs effectués au laboratoire sur des veaux préruminants ont donné des résultats imprévus pouvant être dus à la présence de cellulase chez ces animaux).

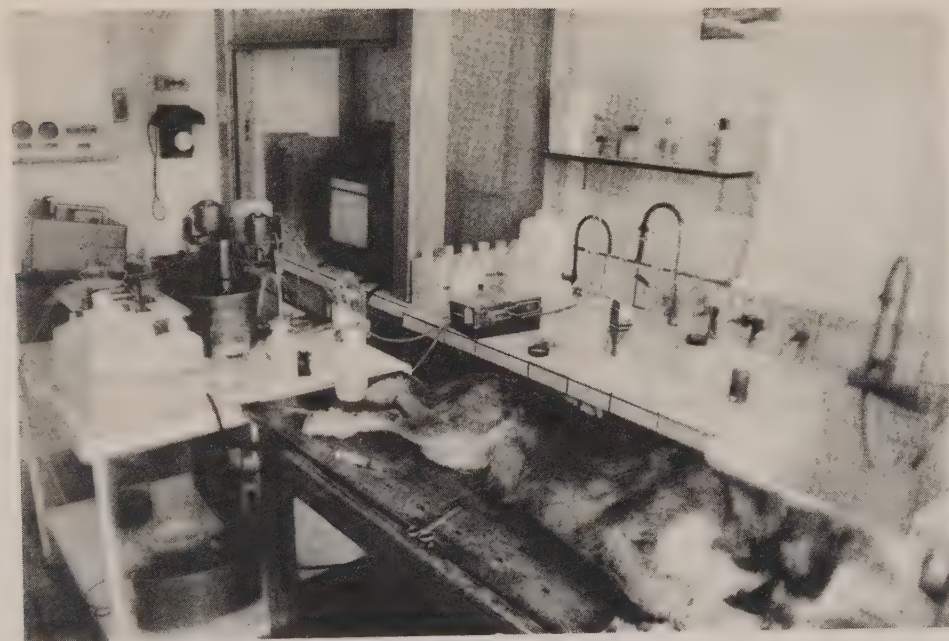


Figure 0

Le protocole expérimental est toujours le même et nous avons administré des comprimés entiers correspondant à une dose de 100 mg/kg. L'évolution de la salicylémie a été suivie durant six heures. Les résultats obtenus sont indiqués au tableau XIV et les courbes de salicylémie obtenues sont comparées à la Figure P. Les courbes et les chiffres obtenus sont la moyenne de deux essais sur le même animal, chaque essai étant effectué à des intervalles de temps d'au moins quinze jours.

COMPRIMES	Acide acétyl salicylique			Dose mg/kg	Délai d'apparition du produit dans le sang (mn)	Salicylémie maximum	
	Poids	Forme	Etat			Valeur γ /ml	Obtenue en (mn)
A Délitement 25 mn	0,500	Acide	cristaux	100	27	175	160
B Délitement 7 mn	0,500	Acide	cristaux encapsu- lés	100	35	170	480

TABEAU XIV

Le délai d'apparition dans le sang de l'aspirine non enrobée est de l'ordre de 27 mn et la salicylémie maximale (175 γ /ml) est atteinte en deux heures. Par contre, si le délai d'apparition dans le sang de l'aspirine micro encapsulée est voisin (35 mn), la courbe montre une progression continue pour atteindre et dépasser en six heures la courbe de l'aspirine pure.

Ces résultats, confirmés par des travaux antérieurs montrent bien l'effet de la micro-encapsulation (50-56-262).

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINE PURE
ET MICRO ENCAPSULEE

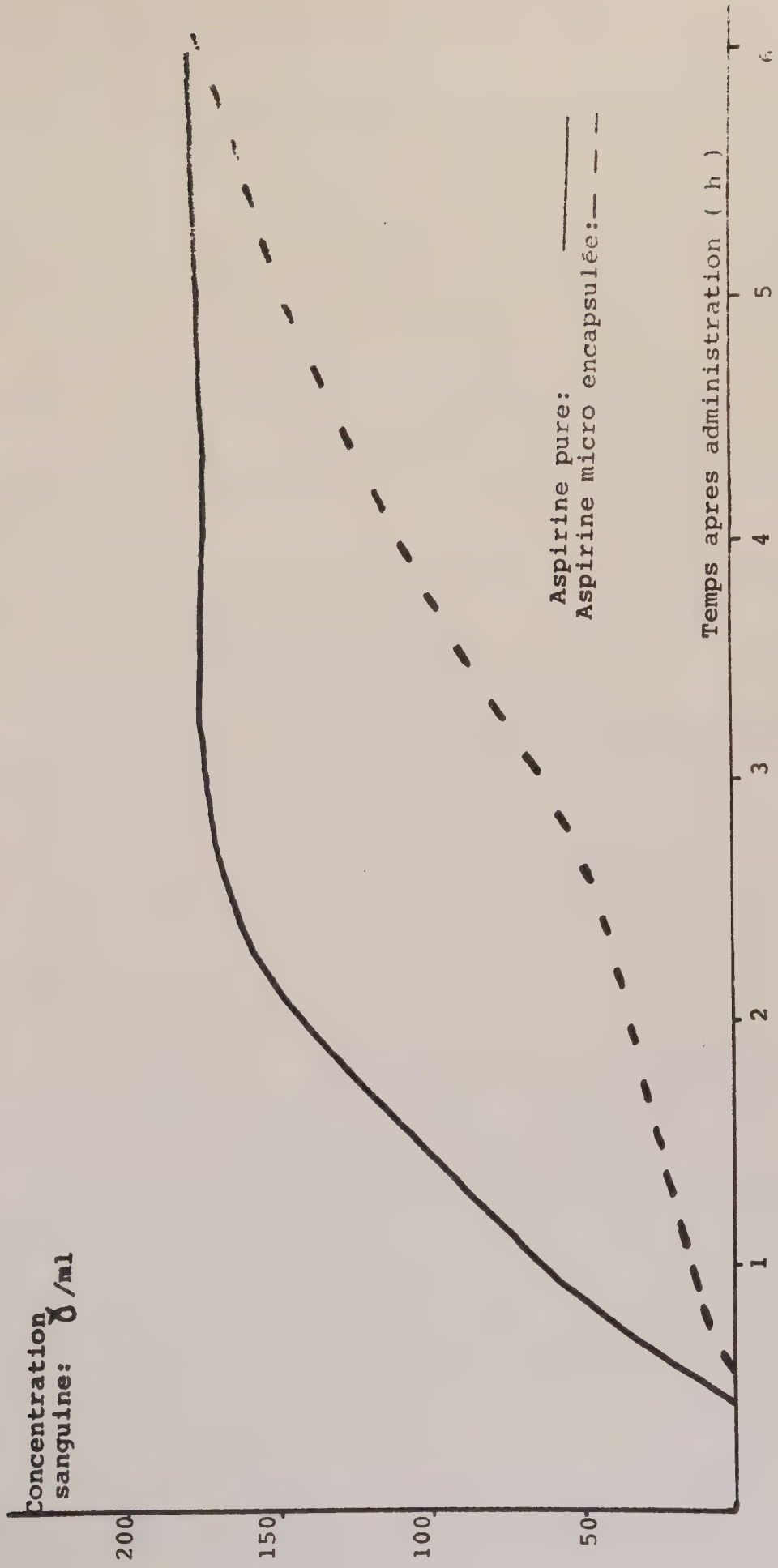


Figure P

CHAPITRE IV

ETUDE DES ASPIRINES DITES SOLUBLES

On a cherché à augmenter la vitesse d'absorption de l'aspirine tout en essayant de limiter les phénomènes d'ulcération pouvant être aggravés par le contact direct de particules d'aspirine avec la muqueuse gastrique. Ces recherches ont conduit à solubiliser l'aspirine en l'englobant dans des comprimés effervescents, en l'associant à des substances solubilisantes sans effervescence ou en la transformant en sel soluble.

De nombreux travaux ont étudié le degré d'absorption de telles formes (8-50-75-140-144-243-269).

Pour notre part, nous avons étudié trois types de composés (leur composition est comparée au tableau XV) :

- comprimés effervescents :
 - . deux spécialités A et B,
 - . une formule réalisée par comparaison au Laboratoire C
- une association soluble : D
 - . aspirine 0,400 g
 - . carbonate de glycine sodium [®] 0,500 g
- un sel soluble d'aspirine : l'aspirinate de lysine E.

1°/ CONDITIONS OPERATOIRES

L'animal utilisé a été ici le lapin. Les prélèvements ont duré de trois à quatre heures, sauf pour le produit E où nous avons suivi la salicylémie durant 7 heures sur deux animaux comme au chapitre II.

Les produits ont été administrés par tubage gastrique après dissolution dans 15 ml d'eau distillée.

- Etude faite avec des produits à la vente en 1970 -

® S. P. C. I. Nom déposé

COMPOSITION COMPAREE DES SPECIALITES ET DES ASSOCIATIONS A BASE D'ASPIRINE "SOLUBLE"

Spécialité ou association	Présentation	Aspirine		Acide citrique	Carbonate monosodique	Autres composants
		Poids	Forme			
A	Comprimé effervescent	0,375	Acide	0	Présence	Vitamine C Glycuronamide Monofumarate de Na
B	Comprimé effervescent	0,400	Acide	Présence	Présence	Vitamine C Glycine
C	Comprimé effervescent	0,450	Acide	0	Présence	Vitamine C Monofumarate de Na
D	Poudre	0,400	Acide	0	0	Carbonate-glycine-sodium [®] (0,500 g)
E	Poudre	0,500	Sel de lysine	0	0	0

TABEAU XV

Les doses utilisées indiquées dans le tableau XV ont été telles car elles représentent la prise d'une unité thérapeutique. Il n'était pas possible de prélever de portion aliquote représentant 100 mg/kg par la suite de surnageants ou de dépôts pour certains produits. De plus, la rupture ou le broyage de comprimés dont on aurait prélevé un poids correspondant à 100 mg/kg aurait profondément altéré les caractères galéniques de la forme.

2°/ RESULTATS

Les résultats obtenus sont présentés au tableau XVI et les courbes de salicylémies sont comparées à la figure Q.

Ces résultats représentent la moyenne arithmétique de trois essais au minimum. Pour le produit E, nous avons procédé à une étude statistique portant sur des essais avec huit animaux. Les résultats de cette étude sont énoncés au tableau XVII et à la figure R.

L'examen de ces résultats nous permet de voir que :

1°/ Le délai d'apparition de l'aspirine dans le sang est dans l'ensemble proche pour tous ces produits :

A :	14 mn
B :	12 mn
C :	8 mn
E :	6 mn

Le produit D est remarquable pour sa très grande rapidité d'apparition : 2 mn.

2°/ Pour tous ces produits, la valeur de la salicylémie maximale et le temps de son obtention semble sans rapport avec la dose utilisée. Ce dernier point semble confirmer l'hypothèse de TEORELL (254) selon laquelle le temps d'obtention de la concentration sanguine est indépendant de la dose administrée.

3°/ Si l'on examine certains critères étudiés précédemment, on constate que :

Les produits à dissolution instantanée D et E donnent des salicylémies parmi les plus élevées, ce qui est conforme aux résultats déjà publiés (50-139-140-143-148-149-166-170-194-260).

RÉSULTATS OBTENUS AVEC LES SPÉCIALITÉS À BASE D'ASPIRINE SOLUBLE

Spécialités ou associations	Légende	Doses en g	Délai d'apparition dans le sang (mn)	Concentration maximum valeur obtenue		pH des solutions obtenues	Aspect des solutions	Temps de dissolution
				γ/ml	en mn			
A	- + - +	0,375	14	180	55	6,2	Résidu	2 mn 30 s
B	- • - •	0,400	12	132	45	5,7	Résidu	4 mn 30 s
C	—	0,450	8	210	22	5,2	Résidu	3 mn 10 s
D	- - - -	0,400	2	260	105	8,5	Limpide	Instantanée
E	• • • •	0,300	6	217	62	6,5	Limpide	Instantanée

TABEAU XVI

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION D'ASPIRINES SOLUBLES

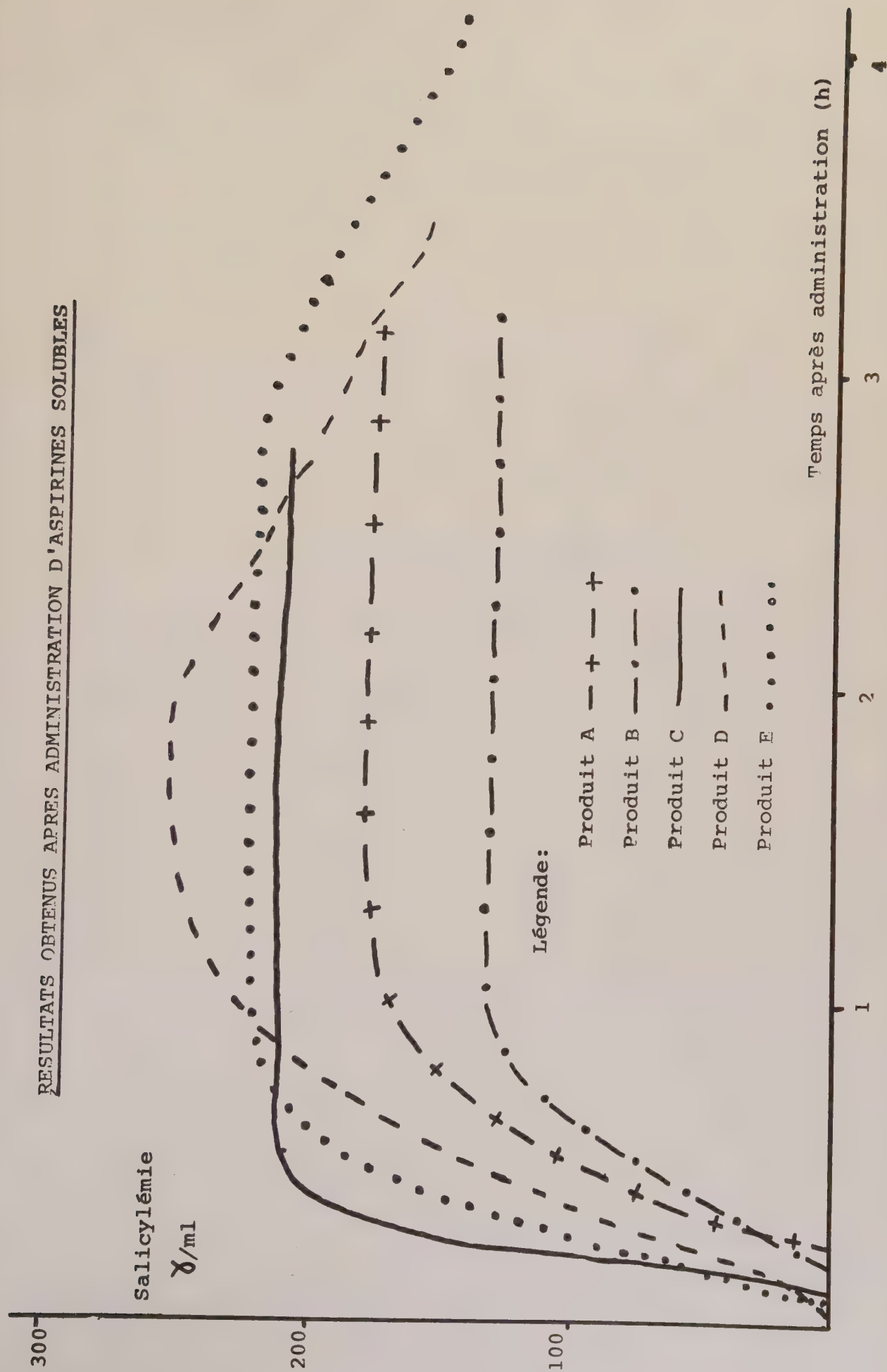


Figure Q

RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION DU PRODUIT E

Salicylémie

γ/ml

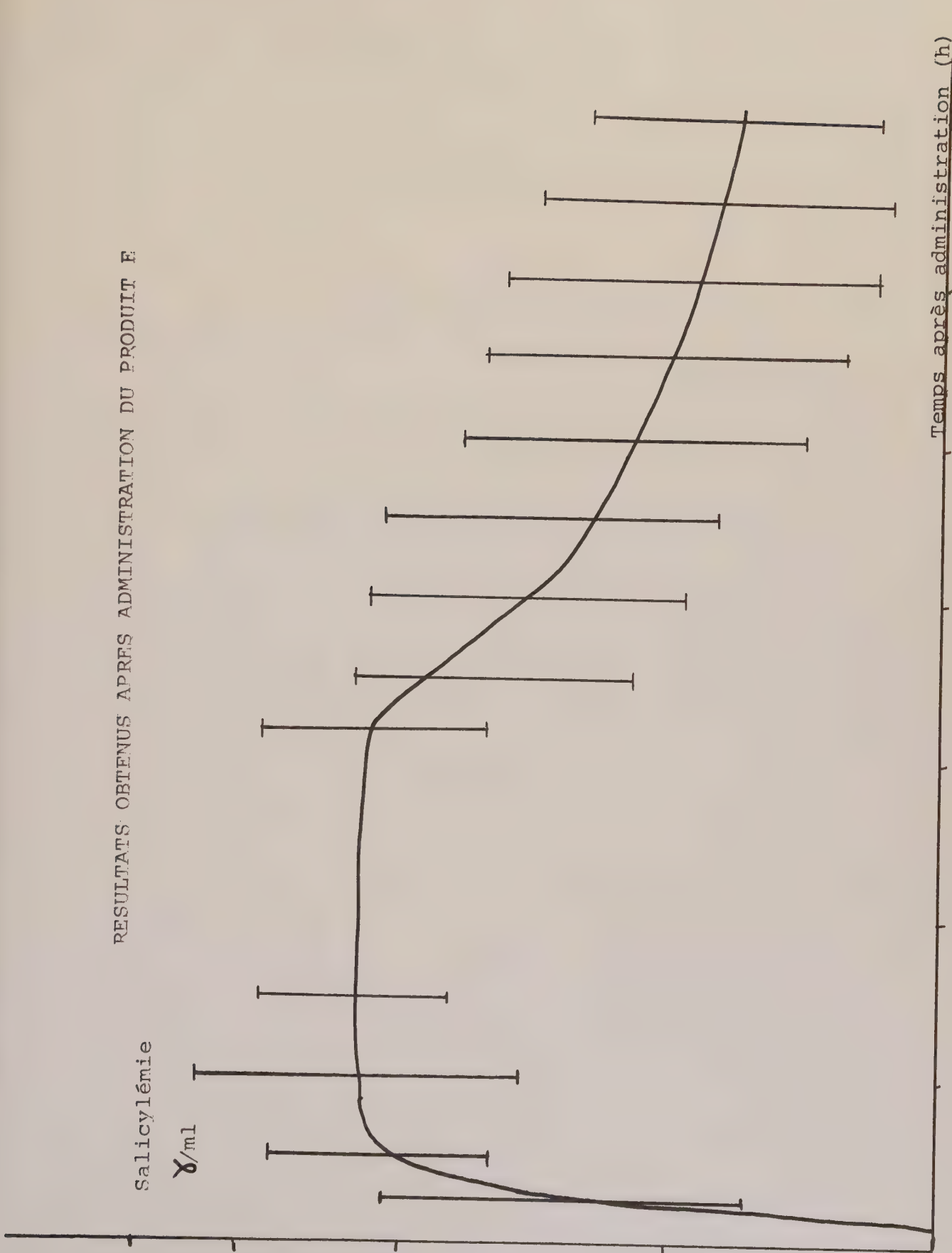
Temps après administration (h)

1 2 3 4 5 6 7

300

200

100



RESULTATS STATISTIQUES- PRODUIT E -

Temps	Moyenne	Ecart	Variance	Limites	
				Inférieure	Supérieure
15	141,66	23,15	536,11	74,05	209,27
50	217,5	17,30	299,58	182,62	252,37
180	-	-	-	-	-
240	155,00	10	100	86,86	213,14
420	76,66	19,20	502,77	20,54	132,78

TABLEAU XVII

Délai :

Moyenne : 5,33

Ecart-type : 2,18

Variance : 4,77

Limites : - Inf. 0

- Sup. 11

Temps taux maximum :

Moyenne : 50,30

Ecart-type : 12,17

Limites : - Inf. 14,79

- Sup. 85,86

Le pH des solutions obtenues (108) semble avoir une influence particulière : ainsi, l'association D dont le pH est égal à 8,5 donne des salicylémies parmi les plus élevées. Ces résultats, confirmés par des travaux antérieurs (37-38-44-50-98-140-142-260) peuvent être attribués au fait que les animaux étant à jeun, une solution proche de la neutralité passerait très rapidement dans l'intestin par accélération de la vidange gastrique (147-148-166-243). L'hypothèse (56) selon laquelle l'aspirine précipiterait sous forme micro cristalline sous l'action de l'acidité gastrique semble peu vraisemblable à d'autres auteurs (139).

Il faut noter que la concentration sanguine maximum ne se maintient pas longtemps à une valeur stable, probablement par accélération de l'élimination rénale (16-26-56).

4°/ La composition des associations influence l'absorption de l'aspirine :

- L'association de carbonate monosodique et d'acide citrique (spécialité B) semble insuffisante pour dissoudre complètement l'aspirine, ce qui se traduit par une salicylémie faible (132 γ /ml) ;
- L'association de carbonate monosodique et de mono fumarate de sodium (produits A et C) semble être plus efficace (A : 180 γ /ml) (C : 210 γ /ml) ;
- Les compositions effervescentes A, B et C sont solubilisées moins vite et les salicylémies obtenues sont plus faibles qu'avec l'association D et le sel E ;
- Le rôle de la glycine dans les comprimés B et l'association D semble peu évident, contrairement à ce qui avait déjà été décrit (243).

CHAPITRE V

=====

ETUDE D'ASPIRINE INJECTABLE

Dans le but d'obtenir de hautes concentrations sanguines tout en évitant les phénomènes d'ulcérations dus au contact de l'aspirine avec la muqueuse gastrique, on a mis au point des solutions injectables d'aspirine.

Diverses spécialités ont été commercialisées récemment et nous en avons choisi deux afin de comparer les salicylémies obtenues avec chacune d'entre elles.

Ces deux spécialités se présentent sous la forme de poudres à dissoudre extemporanément dans un solvant :

- L'une est composée d'acide acétyl salicylique : spécialité A, solubilisée dans une solution de glycérophosphate de sodium ;
- L'autre est composée d'acétyl salicylate de lysine : spécialité B, solubilisée dans de l'eau pour préparation injectable.

1°/ CONDITIONS OPERATOIRES

Nous avons étudié ces produits de la façon suivante :

- La poudre est dissoute dans le solvant de façon à obtenir une solution à 100 mg/ml d'acide acétyl salicylique.
- L'étude de la salicylémie a été effectuée après injection de 100 mg/kg à des lapins.

Cette étude s'est déroulée de deux façons différentes :

- . Par injection rapide,
- . Par injection lente.

1-1 Par injection rapide :

Alors que le prélèvement venait de débiter, nous avons introduit un cathéter dans la veine marginale de l'oreille restée libre. Par l'intermédiaire de ce cathéter, le produit à étudier est injecté à la vitesse de 3 ml/mn (soit 1 mn/lapin de 3 kg).

Dans un deuxième temps, une deuxième injection est pratiquée au bout de 4 heures et la salicylémie est étudiée de la façon suivante :

0 heure... : 1ère injection
 0 heure à 1 heure... : Prélèvement
 1 heure à 3 heures.. : Interruption
 3 heures..... : Début du second prélèvement
 4 heures..... : 2ème injection
 6 heures..... : Arrêt

1-2 Par injection lente :

L'aspect de la courbe de salicylémie obtenue par perfusion de 100 mg/kg d'acide acétyl salicylique est étudiée. Nous avons opéré comme précédemment en remplaçant l'injection par une perfusion assurée par la pompe de l'auto analyseur avec le même débit que le prélèvement (0,32 ml/mn) soit 10 mn d'injection pour un lapin d'un poids de 3,200 kg.

2°/ RESULTATS

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau XVIII. Les courbes de salicylémie sont représentées dans la figure S.

L'allure de ces courbes est très caractéristique, elles montrent que, dès que l'injection a cessé, la chute de salicylémie est intense, puis ralentit, mais persiste de façon marquée car aucun apport ne vient compenser la disparition du produit.

3°/ INTERPRETATION DES RESULTATS

Les courbes obtenues par les deux types d'injection sont différentes, la décroissance observée à la suite d'une injection rapide est beaucoup plus importante que celle observée après perfusion.

COMPOSITION COMPAREE ET RESULTATS OBTENUS AVEC DEUX TYPES D'ASPIRINES INJECTABLES

Spécialité	Composition de la poudre	Composition du solvant	Salicylémie après 1e injection	Salicylémie après 4 H	Salicylémie après 2e injection	Salicylémie au bout de 6 H
A	Acide acétyl salicylique stérile : 0,500 g	Glycérophospha- te de sodium : 0,85 g Eau pour prépa- ration injecta- ble : 5 ml	Perfusion 510 Injection rapide 710	Perfusion 230 Injection rapide 240	Perfusion 670 Injection rapide 760	Perfusion 550 Injection rapide 560
B	Acétyl salicy- late de lysine : 0,900 g Glycine : 0,100 g	Eau pour prépa- ration injecta- ble : 5 ml	Perfusion 450 Injection rapide 640	Perfusion 150 Injection rapide 65	Perfusion 525 Injection rapide 560	Perfusion 440 Injection rapide 260

TABLÉAU XVIII

sanguine: δ /ml

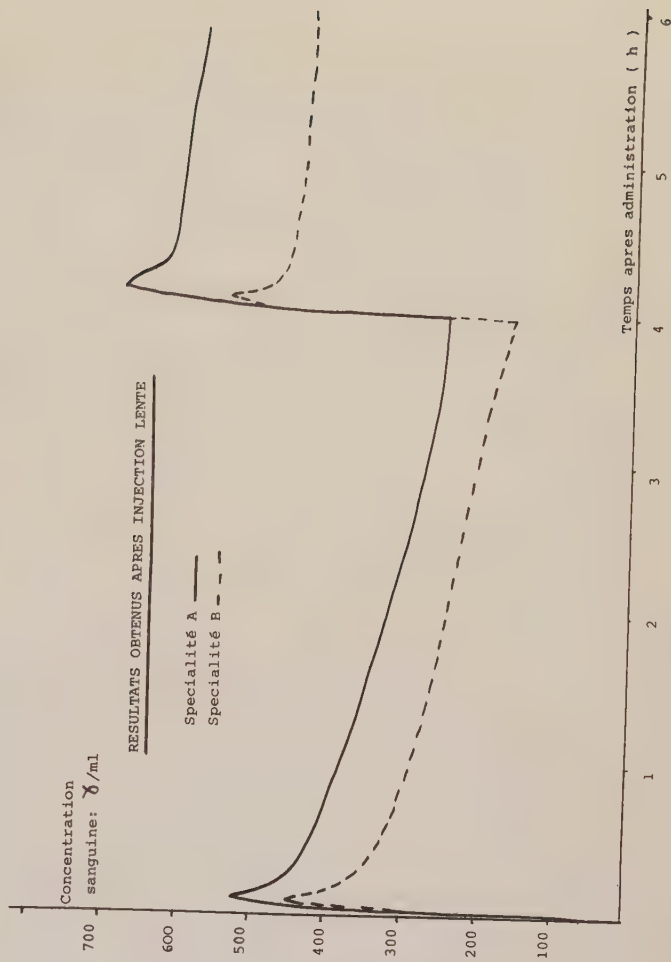
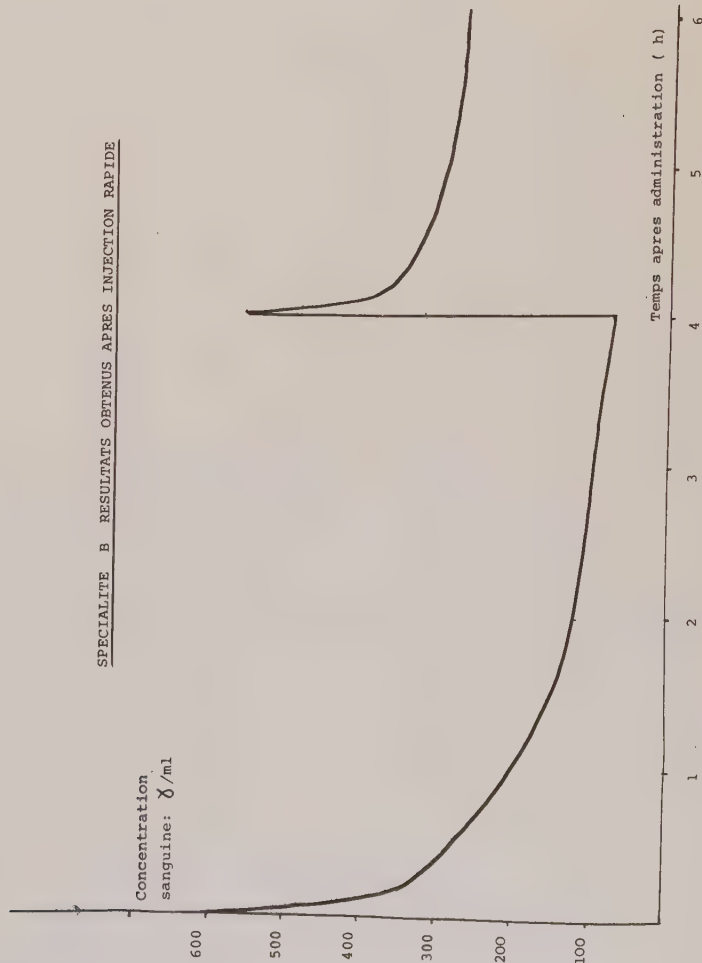
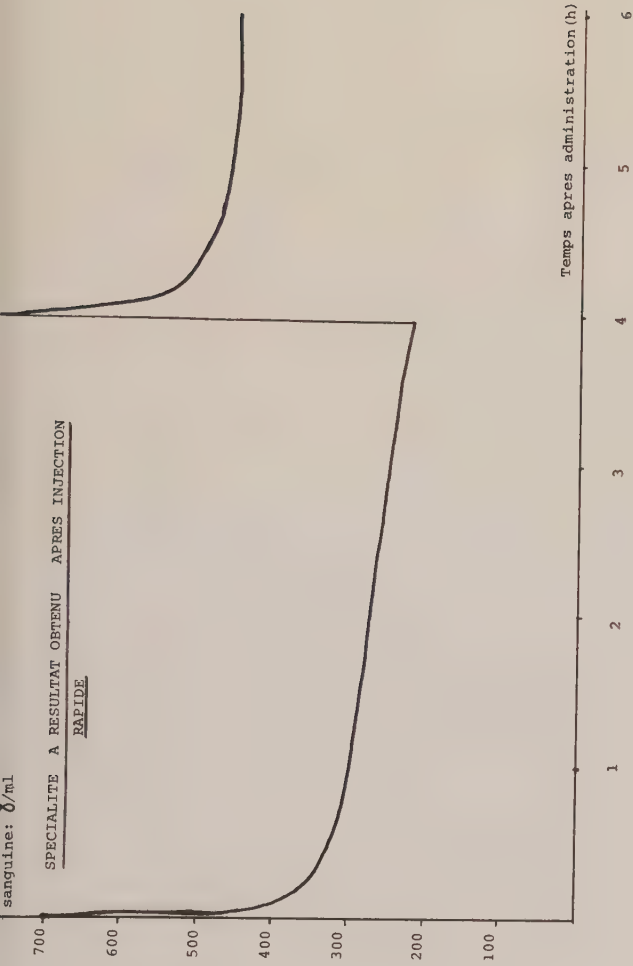


Figure 5

Immédiatement après l'arrêt de l'injection, les courbes prennent l'allure d'exponentielles selon l'équation (34-43-266) :

$$C = C_0 e^{-Kt} \quad (1)$$

Le coefficient K représente le taux de disparition du produit dans le sang.

L'équation (1) peut s'écrire également :

$$\text{Log } C = \log C_0 - Kt$$

Si on prend les valeurs de C aux temps t_1 et t_2 quelconques, on peut écrire :

$$\text{Log } C_1 - \text{Log } C_2 = K (t_2 - t_1)$$

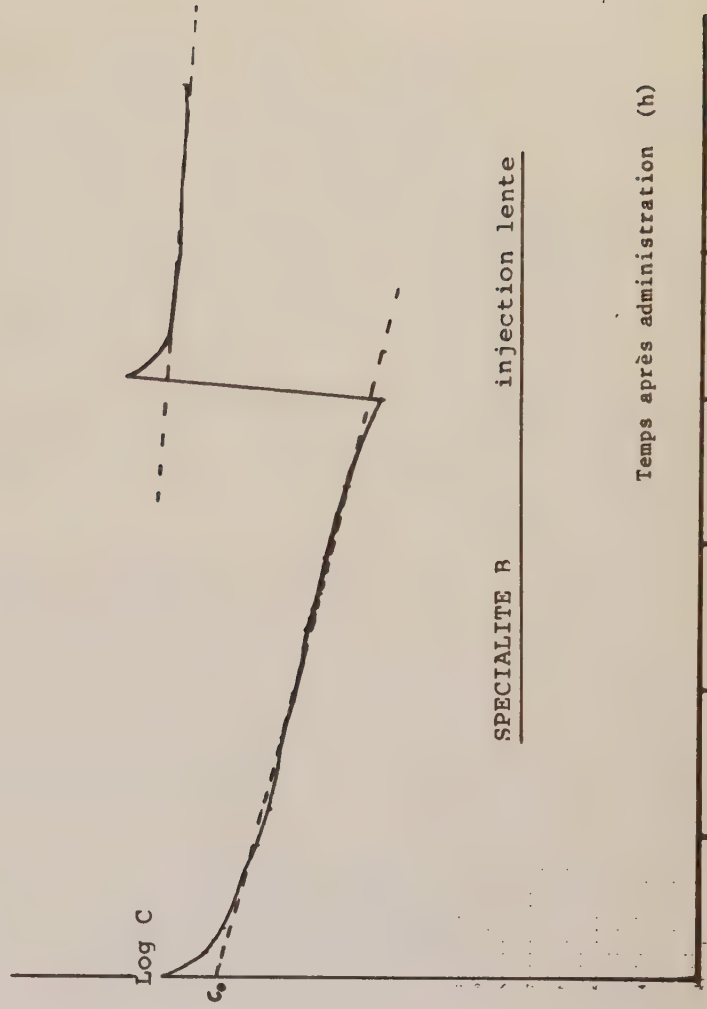
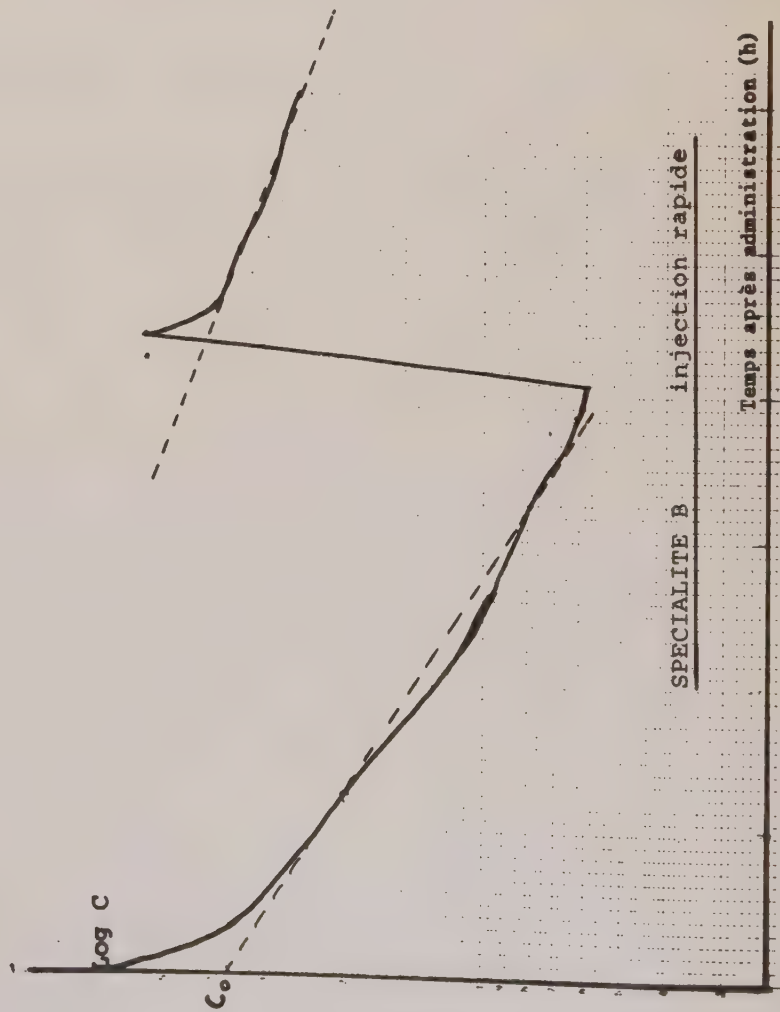
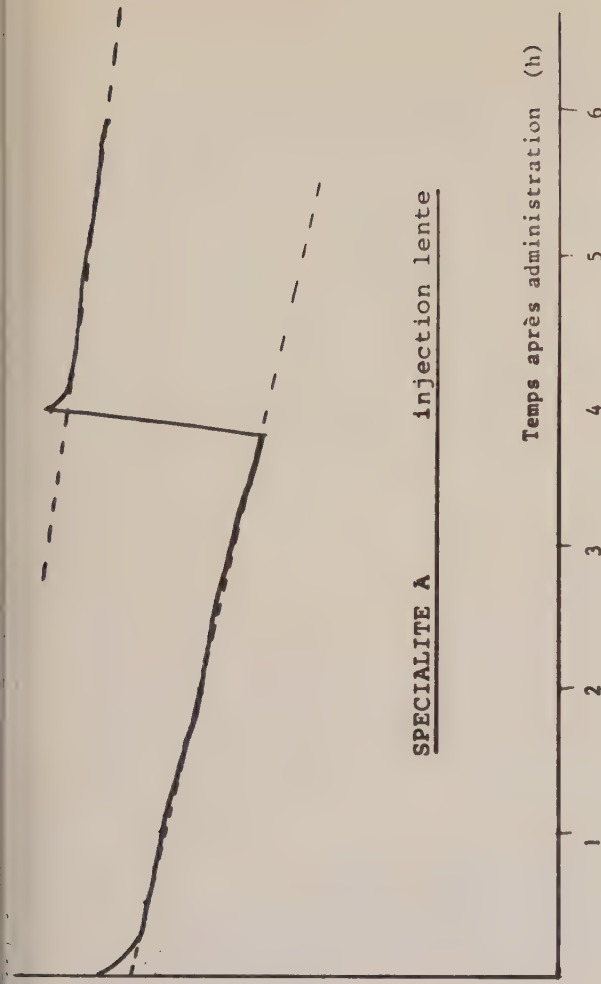
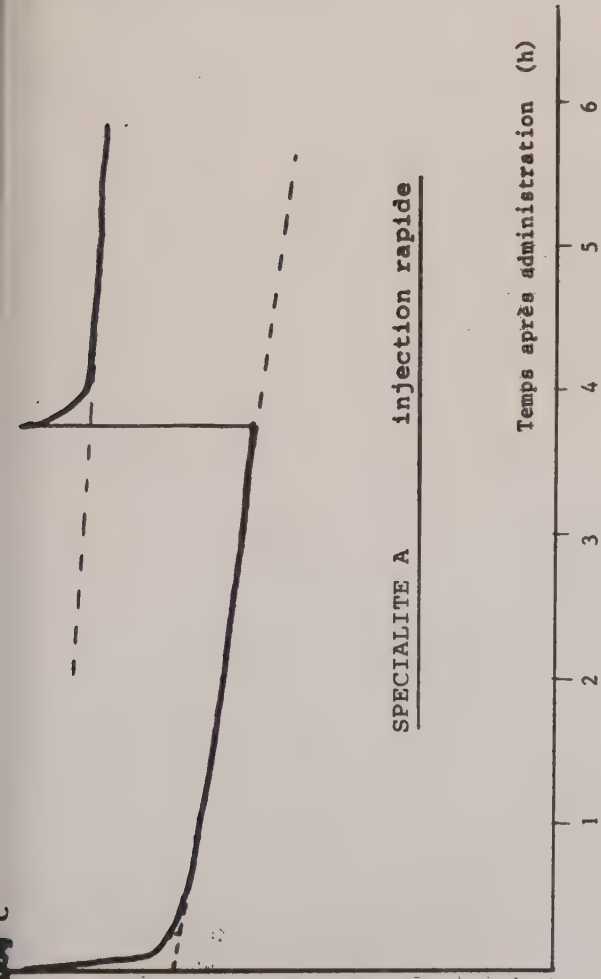
On en déduit la valeur de K :

$$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{t_2 - t_1}$$

Une autre méthode de détermination du taux de disparition est de porter les concentrations en fonction du temps en coordonnée semi-logarithmique, on obtient alors des droites (Fig. T) dont la pente donne immédiatement les valeurs de K.

Nous avons calculé les valeurs du taux de décroissance par chacune des méthodes :

Spécialité	$K = \frac{\log C_1 - \log C_2}{t_2 - t_1}$	K = pente
A Injection rapide	0,120	0,160
A Injection lente	0,230	0,220
B Injection rapide	0,590	0,575
B Injection lente	0,281	0,227



Ces chiffres montrent que pour la spécialité A, quelle que soit la vitesse d'injection, la salicylémie décroît moins vite que pour la spécialité B.

Ces faits se vérifient sur les courbes de salicylémie où l'on voit qu'après la période intense de décroissance existant dans les cinq premières minutes, la chute de salicylémie de la spécialité A s'amortit plus fortement que celle de la spécialité B.

Si on procède à une nouvelle injection au bout de quatre heures, on trouve les taux de décroissance suivants :

Spécialité A :

- . injection rapide : $K = 0,080$
- . injection lente : $K = 0,160$

Spécialité B :

- . injection rapide : $K = 0,360$
- . injection lente : $K = 0,080$

soit des taux de décroissance inférieurs de moitié à ceux obtenus après la première injection. Il semble qu'il y ait eu accumulation du produit dans l'organisme.

Ces essais montrent clairement que pour un même soluté injectable, la disponibilité physiologique varie avec la vitesse d'administration.

Afin d'expliquer les différences entre les deux produits, nous avons mesuré leur pH et effectué une estimation de leur pouvoir tampon.

	SPECIALITES	
	A	B
pH de départ	6,2	5,5
pH + 10 ml HCl 0,1 N	5,2	3,7
pH + 10 ml NaOH 0,1 N	6,5	9,2

La spécialité B possède un pouvoir tampon moins élevé que la spécialité A, ce fait pourrait expliquer les différences de comportement des deux produits dans l'organisme.

4°/ COMPARAISON AVEC LES ASPIRINES SOLUBLES ADMINISTREES PAR VOIE ORALE

Nous avons cherché à comparer les salicylémies obtenues par voie intra-veineuse et orale. Pour cela, nous choisirons comme prototype d'aspirines solubles deux aspirines étudiées au chapitre IV :

- L'association aspirine C.G.S. : produit D
- L'aspirinate de lysine : produit E

Les salicylémies obtenues par voie orale sont naturellement plus faibles que celles obtenues par voie intra-veineuse.

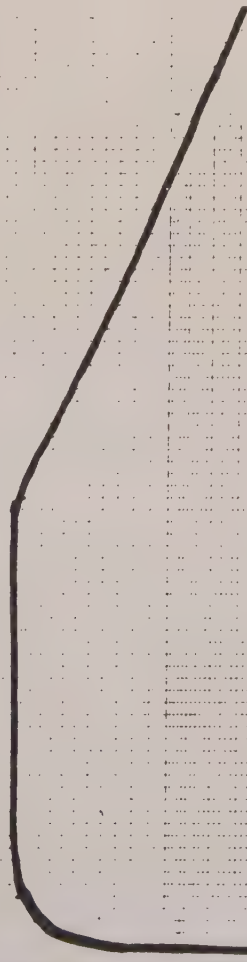
On peut étudier la décroissance de la salicylémie après administration par voie orale :

Si on porte en coordonnées semi-logarithmiques les concentrations sanguines en fonction du temps (Fig. U), on constate qu'après la phase de montée, puis de stabilisation de la concentration, on obtient une partie décroissante devenant linéaire au bout d'un certain temps. La forme de la courbe en cette zone laisse supposer que l'absorption joue alors un rôle négligeable devant l'élimination. L'équation régissant la concentration sanguine prend alors la forme d'une exponentielle simple de type :

$$C = A e^{-Kt}$$

Log C

PRODUIT D Voie orale



Temps après administration (h)

Log C

PRODUIT D Voie orale



Temps après administration (h)

La pente de la droite obtenue nous permet de donner la valeur du taux de décroissance ou taux apparent d'élimination. Nous avons mesuré cette valeur pour les deux produits étudiés :

Produit D : $K = 0,141$

Produit E : $K = 0,140$

Ces deux valeurs sont très voisines : la décroissance se fait avec des vitesses identiques pour les deux produits administrés par voie orale.

Si l'on rapproche ces valeurs de celles obtenues après administration par voie intra-veineuse :

VOIE ORALE :

Produit D : $K = 0,141$

Produit E : $K = 0,140$

VOIE INTRA-VEINEUSE :

Lente :

. Spécialité A : $K = 0,280$

. Spécialité B : $K = 0,217$

Rapide :

. Spécialité A : $K = 0,160$

. Spécialité B : $K = 0,575$

On constate alors que la décroissance après administration par voie orale est bien moins rapide qu'après injection intra-veineuse .

Un autre élément de comparaison est le calcul de la quantité de salicylés absorbée :

- Lors des deux types d'injection, nous avons introduit directement dans le sang la totalité de la dose administrée, ce qui se traduit par les salicylémies considérablement élevées que nous avons retenues ;
- Lors de l'administration par voie orale, on ignore en fait quelle quantité de salicylés sera absorbée par l'organisme. Il est cependant possible de la calculer en utilisant l'équation (34-41-224-269) :

$$FD_t = V \cdot K \int_0^t C_t \cdot dt$$

Au temps t : . F est la fraction de la dose D administrée,

. V est le volume apparent de distribution,

. k est le taux d'élimination que nous assimilerons au taux apparent d'élimination déjà mesuré.

L'intégrale se calcule facilement par la mesure de la surface délimitée par la courbe de salicylémie et l'axe des ordonnées.

Nous avons calculé la fraction de la dose absorbée par voie orale au bout de quatre heures après administration. Pour cela :

- Nous avons assimilé le taux de décroissance calculé précédemment au taux d'élimination ;
- Nous avons calculé le volume apparent de distribution selon la méthode décrite au chapitre III de la IIème partie. Ce volume a pu être évalué chez le lapin comme étant de :

$$V = 0,283 \text{ L/kg}$$

Les fractions de doses absorbées pour les produits D et E sont :

Produit D : FD = 0,24 g/kg

Produit E : FD = 0,27 g/kg

Ces quantités très voisines sont inférieures d'au moins 75 % à celles qui ont pénétré dans l'organisme après administration par voie intra-veineuse.

Cette étude montre donc l'intérêt que revêt pour le galéniste la connaissance des conditions de l'absorption d'un médicament selon la voie et le mode d'administration utilisés. On pourra donc choisir de la sorte la meilleure forme galénique d'utilisation et le mode d'administration d'un principe actif donné.

CHAPITRE VI

=====

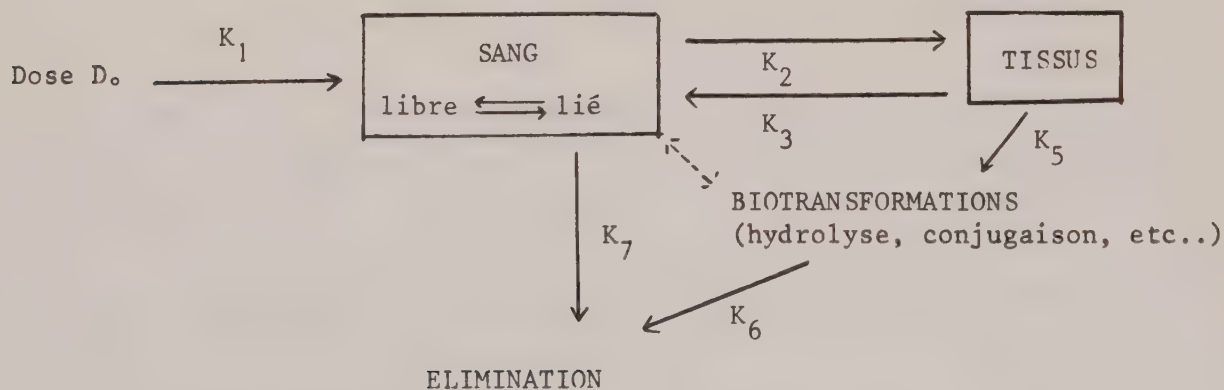
INTERPRETATION GENERALE DES RESULTATS EXPERIMENTAUX

En accord avec les types d'interprétation mathématique exposés précédemment, nous avons cherché à interpréter tous les résultats expérimentaux obtenus.

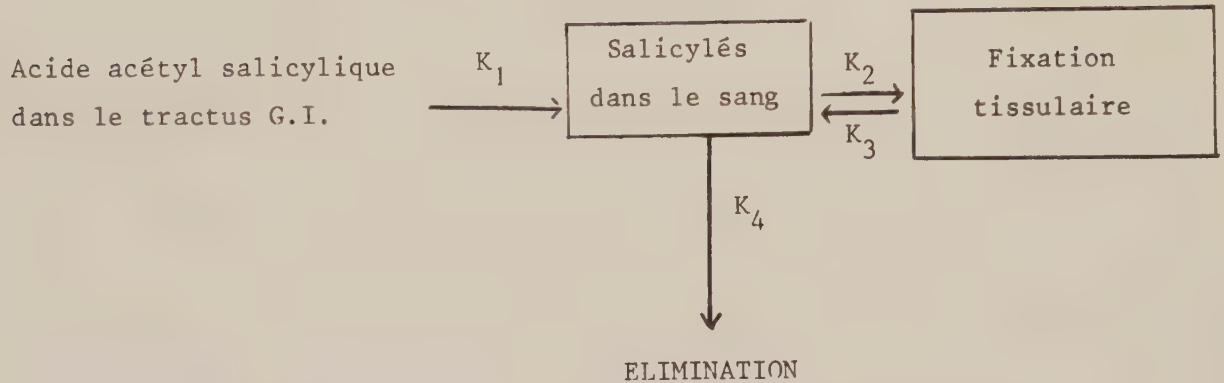
A cet effet, il nous fallait définir un modèle d'étude et déterminer les constantes s'y rapportant, puis appliquer à ce système une équation nous permettant de définir les paramètres déterminant l'absorption de l'aspirine afin de pouvoir comparer entre eux les différents résultats expérimentaux.

1°/ MODELE D'ETUDE

Nous utiliserons un modèle d'étude très simplifié de l'absorption et de la distribution de l'aspirine dans l'organisme.



Le protocole utilisé ne peut nous permettre que de doser les salicylés totaux contenus dans le sang. Il n'est donc pas possible de différencier l'aspirine libre, l'aspirine liée et ses métabolites ; le modèle devra donc être simplifié de la façon suivante :



Si nous considérons le sang comme le compartiment central de l'étude, nous pouvons admettre comme s'additionnant tous les salicylés allant vers le sang.

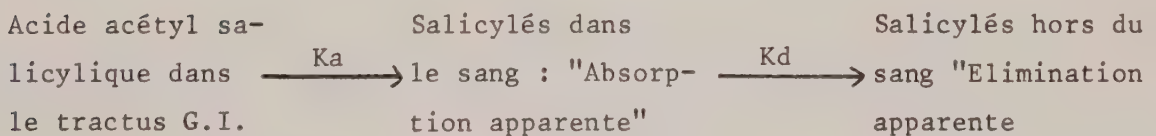
La somme des taux de transfert de ces salicylés nous donnera le taux apparent d'absorption K_a :

$$K_a = K_1 + K_3$$

On peut également additionner les salicylés s'éloignant du sang. La somme de leur taux de transfert nous donnera le taux apparent d'élimination ou taux de décroissance sanguine K_d :

$$K_d = K_2 + K_4$$

Le modèle pourra alors se simplifier de la façon suivante :



A ce modèle, nous pouvons appliquer l'équation de TEORELL :

$$C = \frac{D}{V} \frac{K_a}{K_a - K_d} (e^{-K_d t} - e^{-K_a t}) \quad (1)$$

- C = Concentration sanguine
 D = Dose administrée mg/kg
 V = Volume apparent de distribution (l/kg)
 t = Temps en heures
 Ka = Taux apparent d'absorption par heure
 Kd = Taux apparent d'élimination par heure

2°/ DETERMINATION DU TAUX APPARENT D'ABSORPTION

Cette valeur peut être calculée de trois façons :

1. - Les vitesses de variation de concentration sont calculées au moyen de la dérivée par rapport au temps de l'équation (1) :

$$\frac{dc}{dt} = \frac{D}{V} = \frac{Ka}{Ka - Kd} (-Kd e^{-Kd t} + Ka e^{-Ka t})$$

Au temps $t = 0$:

$$\frac{dc}{dt} = - \frac{D}{V} Ka$$

La vitesse initiale d'absorption est directement proportionnelle :

- A la dose administrée,
- Au taux apparent d'absorption,

Et inversement proportionnelle :

- Au volume apparent de distribution.

Sa valeur nous est donnée par la mesure de la pente de la tangente à l'origine de la courbe. On pourra en tirer la valeur de Ka :

$$Ka = \frac{\text{Pente. } V}{D}$$

Les valeurs de Ka obtenues sont indiquées dans le tableau XIX, colonne 6.

Les chiffres ne représentent pas de façon absolue le taux d'absorption des divers produits, car la mesure de la pente à l'origine est sujette à une certaine imprécision. Nous utiliserons simplement ces valeurs afin de

comparer les résultats obtenus car, les pentes ont toutes été mesurées dans les mêmes conditions et il est vraisemblable que l'erreur portant sur cette mesure est la même dans tous les cas.

2. - Il est aussi possible de déterminer le taux d'absorption en portant les concentrations sanguinées en coordonnées semi-logarithmiques. On obtient alors des courbes (Fig. U) dont la toute première partie peut être considérée comme linéaire. On considère alors que le terme en K_d s'annule devant le terme en K_a , et on trouve :

$$K_a = \frac{\log C_2 - \log C_1}{t_2 - t_1}$$

C_1 = Concentration au temps t_1 quelconque

C_2 = Concentration au temps t_2 quelconque

Mais ici, le degré d'imprécision est le même que celui obtenu par la méthode précédente, aussi, n'avons-nous pas jugé nécessaire d'utiliser les chiffres donnés par cette méthode.

3. - Utilisation du calculateur analogique[■] : cette méthode, couramment utilisée par les anglo-saxons paraît être la seule susceptible de donner de façon rigoureuse la valeur des taux de transfert (41-70-91-178-190-205-223-266-271). Nous avons pu utiliser cette méthode grâce à un programme de calcul original qui nous a été communiqué par MUELLEP (190).

Le principe de calcul est le suivant : l'équation de départ est l'équation de TEORELL :

$$C = \frac{D_o}{V_d} \frac{K_a}{K_a - K_d} (e^{-K_d \cdot t} - e^{-K_a \cdot t})$$

On pose :

$$\gamma = \frac{D_o}{V_d} \quad \text{Et : } \delta = K_a - K_d$$

■ Nous remercions M. MERITET assistant à l'I.U.T. de mesures physiques qui a bien voulu nous apporter son concours.

L'équation devient :

$$C = \frac{\gamma K_a}{\delta} (e^{-K_d \cdot t} - e^{-K_a \cdot t})$$

Cette équation transformée donne :

$$C = \frac{\gamma K_a}{\delta} \cdot e^{-K_a \cdot t} (e^{\delta t} - 1)$$

En convertissant en logarithmes naturels, il vient :

$$\text{Log} \frac{C}{e^{-\delta t} - 1} = \text{Log} \frac{\gamma K_a}{\delta} - K_a t$$

Des valeurs hypothétiques sont données à δ , chacune de ces valeurs donne une droite descendante dont la pente est K_a ; on peut alors trouver K_d en soustrayant K_a de δ . En remplaçant K_a , K_d et δ par leurs valeurs, on trouve γ .

A ces valeurs correspond une valeur théorique de C qui est comparée à la valeur mesurée au temps considéré. Le calcul se poursuit jusqu'à ce que les valeurs théoriques de C correspondent, le plus étroitement possible, aux valeurs expérimentales. On en retire les valeurs de K_a , K_d et γ .

Ce programme permet, de plus, de donner l'origine des temps de la courbe (valeur notée Δt), qui correspond au délai d'apparition du produit dans le sang.

Application :

L'utilisation de ce programme nécessite de posséder une partie de courbe descendante suffisamment importante, ce que nous n'avons malheureusement pu obtenir pour la majorité des produits étudiés. Aussi, ce programme n'a pu être appliqué qu'au cas de deux produits :

- . Une aspirine pure : l'aspirine ultra fine,
- . Une aspirine soluble : l'aspirinate de lysine (produit E).

L'ajustement de l'équation s'est effectué en fournissant 9 concentrations au calculateur dans le cas du produit E et 12 concentrations dans le cas de l'aspirine ultra fine.

La mesure du volume apparent de distribution effectuée de façon expérimentale donne la même valeur pour les mêmes produits (0,283 l/kg) ; la valeur expérimentale de γ est donc :

$$\gamma = \frac{D_0}{V_d} = \frac{100}{0,283} = 353$$

Le tableau suivant établit une comparaison entre les divers paramètres calculés graphiquement et les mêmes paramètres trouvés par le calcul :

	γt		K_a		K_d		Δt	
	Exp.	Théor.	Graph.	Théor.	Graph.	Théor.	Exp.	Théor.
PRODUIT E	353	324,87	1,52	2,317	0,140	0,222	2 mn	0,5 mn
ULTRA FINE	353	280	0,34	0,531	0,070	0,166	24 mn	14 mn

Ces chiffres, bien que du même ordre, sont sensiblement différents.

Afin de vérifier quels sont les chiffres se rapprochant le plus de la réalité, des concentrations au même temps ont été calculées en utilisant chaque type de paramètre.

Pour le produit E, la comparaison est effectuée au tableau suivant.

PRODUIT E -

Temps	C observée	C paramètres graphiques	C calculateur analogique
0,5	216	109	202
1	217	195	240
2	217	-	215
3	212	-	174
3,5	155	182	167
4	150	155	150
5	115	-	117
6	95	-	94

La comparaison pour l'aspirine ultra fine est effectuée au tableau suivant :

ASPIRINE ULTRA FINE -

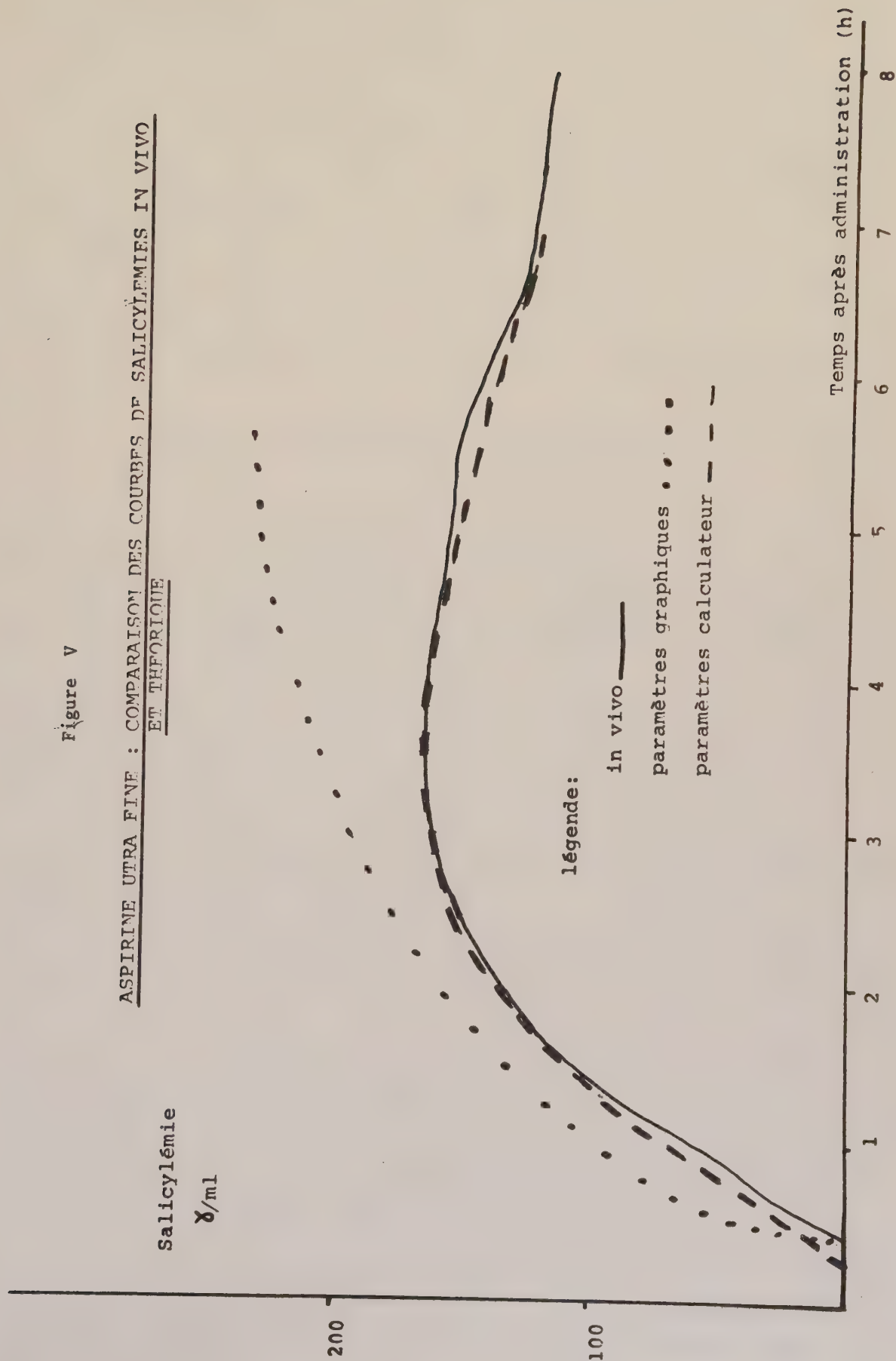
Temps (h)	C observée	C paramètres graphiques	C calculateur analogique
0,5	35	56	40
1	88	97	89
2	146	160	151
3	165	199	163
4	163	221	160
5	153	230	148
6	140	231	137

Il est possible de déterminer le temps d'obtention de la concentration maximum. Selon TEORELL, l'expression donnant ce temps est :

$$\text{Temps maximum} = \frac{\text{Log } K_a - \text{Log } K_d}{K_a - K_d}$$

Figure V

ASPIRINE UTRA FINE : COMPARAISON DES COURBES DE SALICYLÉMIES IN VIVO
ET THÉORIQUE



Le tableau suivant compare les temps d'obtention de la salicylémie maximale observés, et les temps calculés avec chaque type de paramètres (les temps sont indiqués en mn) :

Type d'aspirine	Temps maximum observé	Temps maximum paramètres graphiques	Temps maximum calculateur analogique
PRODUIT E	62	103	67
ULTRA FINE	180	360	192

A ces temps correspondent les salicylémies maximales suivantes :

Type d'aspirine	C maximum observée	C maximum paramètres graphiques	C maximum par calculateur analogique
PRODUIT E	217	285	241
ULTRA FINE	165	230	165

Les figures V et W montrent pour chaque produit la comparaison entre les courbes de salicylémie in vivo et les courbes théoriques obtenues en utilisant chaque type de paramètre.

Ces comparaisons indiquent clairement que le degré de précision obtenu avec le calculateur analogique est bien plus élevé que celui obtenu avec la méthode graphique. Cependant, l'équation de TEORELL ne peut rendre compte du plateau sanguin, ce qui explique les différences observées entre concentrations in vivo et concentrations théoriques obtenues avec le produit E. La précision est considérablement plus grande avec l'aspirine ultra fine qui donne une courbe de salicylémie ayant l'aspect classique de courbe en cloche répondant à l'équation de TEORELL.

Il semble donc que le calculateur analogique permette d'interpréter de la meilleure façon les courbes de séjour sanguin, le programme utilisé donnant une précision plus ou moins grande selon l'allure des courbes obtenues in vivo.

Le programme proposé par MULLER paraît ici particulièrement digne d'intérêt.

L'utilisation de ce type d'interprétation permettra de montrer quelles sont les répercussions des modifications galéniques sur l'absorption d'un principe actif donné.

3°/ DETERMINATION DU DEGRE D'ABSORPTION

Nous avons vu que la fraction absorbée est donnée par la relation (34-41-224-269) :

$$FD = V \cdot K_d \int_0^t C \, dt$$

F = Fraction de la dose D absorbée

K_d = Taux d'élimination

C = Concentration sanguine

Nous avons tenté de déterminer FD pour chacun des produits étudiés. Cependant, la mesure de K_d ne nous a pas été directement accessible pour tous les essais : il nous fallait en effet obtenir une courbe décroissante suffisamment importante pour que le terme en K_a de l'équation de TEORELL s'annule devant le terme en K_d.

Aussi, n'avons nous pu mesurer que la valeur de :

$$V \cdot \int_0^t C \cdot dt$$

valeur que nous appellerons degré d'absorption.

Cette valeur nous permettra de comparer les résultats obtenus et la mesure a été faite pour t = 4 heures et t = 8 heures.

Les résultats figurent dans le tableau XIX, colonnes 7 et 8.

Ces chiffres qui ne représentent pas des quantités d'aspirines absorbées, peuvent permettre de comparer les degrés d'absorption obtenus

avec chaque produit. En effet, si nous n'avons pu calculer K_d , il est vraisemblable cependant que sa valeur la plus forte est obtenue avec des produits solubles. En tout état de cause, les produits insolubles donnent des taux d'élimination inférieurs ou au plus égaux à ceux obtenus avec les aspirines solubles.

Ceci permet de dire que si le degré d'absorption calculé pour les aspirines solubles est voisin de ceux calculés pour les aspirines insolubles, la quantité réelle d'aspirine absorbée est nettement supérieure pour la première forme car le coefficient K_d est très supérieur (environ cinq fois d'après les données bibliographiques) à celui que donnent les deuxièmes formes.

En examinant le tableau XIX dans le sens horizontal, on voit que :

1. - Pour l'aspirine pure :

- La taille des particules du principe actif pur influence considérablement son absorption.

En effet :

D'une part, la vitesse d'absorption est proportionnelle à la surface spécifique, ainsi qu'en font foi les temps d'obtention de la salicylémie maximale (colonne 4) et les taux apparents d'absorption (K_a colonne 5).

D'autre part, l'intensité de l'absorption augmente avec la taille des particules ainsi qu'en font foi la valeur de la salicylémie maximale (colonne 3) et la mesure des degrés d'absorption durant quatre heures (colonne 7) et huit heures (colonne 8).

Cependant :

- Le délai d'apparition dans le sang de l'aspirine est peu influencé par la taille des particules.

- Enfin, dans le cas de l'aspirine ultra-fine, il faut se méfier de l'utilisation abusive de poudres trop fines, celles-ci se mouillant difficilement, ce qui entraîne une difficulté de l'absorption.

TABLEAU N° XIX - COMPARAISON GENERALE DES RESULTATS OBTENUS

Colonnes : 1		2	3	4		5	6	7	8
FORMES		DOSES	DELAI D'APPARITION en mn	SALICYLEMIE MAX. Valeur obtenue en			Ka	DEGRE D'ABSORPTION	
				ml	mn			4 h	8 h
ASPIRINE PURE		100 mg/kg 100 mg/kg 100 mg/kg 100 mg/kg	13 à 14 13 à 14 7,5 24	241 140 95 165	128 135 86 190		1,35 0,36 1,86 0,30	205 118 96 142	495 277 196 279
ASPIRINE ENROBEE PAR 10 % DE PRECIROL		100 mg/kg 100 mg/kg 100 mg/kg	8 26 4 à 5	200 195 158	123 89 88		0,59 0,84 1,01	180 196 160	401 386 292
ASPIRINE ENROBEE PAR 40 % DE PRECIROL		100 mg/kg 100 mg/kg	28 30	154 110	205 120		0,24 0,24	127 103	300 205
ASPIRINES SOLUBLES		375 mg 400 mg 450 mg 400 mg 300 mg	14 12 8 2 6	180 132 210 260 217	55 45 22 105 62		2,27 0,71 2,38 0,96 1,52	169 131 220 182 196	- - - - +

2. - Pour l'aspirine enrobée :

Un fait semble acquis : l'enrobage par 10 % de Préciról uniformise l'absorption des aspirines de différentes granulométries. Les temps d'obtention des salicylémies maximales et leurs valeurs sont voisins, ainsi que les taux et les degrés d'absorption (Colonnes 4, 5, 6, 7, 8).

Par contre, l'enrobage par 40 % de Préciról entrave de façon marquée l'absorption de l'aspirine.

Dans ces deux cas, la vitesse de destruction de la matière grasse semble régler l'absorption.

3. - Pour les aspirines solubles :

On constate de façon générale que les salicylémies maximales obtenues très rapidement sont relativement élevées.

Les taux apparents d'absorption (Colonne 6) sont parmi les plus importants ainsi que les degrés d'absorption (Colonne 7).

Individuellement, ces produits se comportent de façon diverse. Ce qui montre bien l'influence de la formulation avec, en particulier, celle du pH des solutions obtenues, du temps de dissolution et des excipients utilisés pour la compression.

Si on compare maintenant les paramètres du tableau XIX en l'étudiant dans le sens vertical, on voit que :

1. - Le délai d'apparition de l'aspirine dans le sang (Colonne 3) n'est pas très différent selon les produits étudiés. Il faut cependant remarquer que le délai le plus court est obtenu avec un produit soluble (Produit D : 2 mn) alors que le plus long est atteint avec une aspirine pure (Ultra-fine : 24 mn).

2. - Les salicylémies maximales (Colonne 4) sont différentes selon les produits.

Les valeurs les plus fortes sont obtenues avec les aspirines solubles, mais des valeurs voisines se retrouvent pour des aspirines insolubles pures ou enrobées par 10 % de Préciról.

D'autre part, certaines valeurs de salicylémies maximales observées avec les aspirines solubles sont faibles et proches de celles déterminées avec les aspirines pures.

Ce qui explique le comportement fondamentalement différent de tous ces types d'aspirines, c'est essentiellement le temps d'obtention de la salicylémie maximale (Colonne 5) : les temps les plus courts sont obtenus avec les formes solubles ; les aspirines insolubles présentent les temps les plus longs, notamment les aspirines enrobées par 40 % de Précirol.

3. - Les taux apparents d'absorption (Colonne 6) sont fonction de la forme galénique.

Les formes solubles possèdent les vitesses d'absorption les plus élevées, les plus faibles étant obtenues avec les aspirines insolubles et notamment l'aspirine enrobée par 40 % de Précirol.

Cependant, on note que certaines formes insolubles non enrobées, notamment l'aspirine cristallisée Codex et surtout l'aspirine moulinée, ont des vitesses initiales d'absorption égales ou supérieures à celles observées avec certaines aspirines solubles.

4. - La valeur du degré d'absorption (Colonnes 7 et 8) semble également fonction de la forme d'administration. En effet, pendant quatre heures, les valeurs les plus élevées sont observées avec les aspirines solubles. Cependant, certaines valeurs obtenues avec les formes insolubles sont voisines (notamment pour l'aspirine cristallisée Codex).

Il faut noter ici que toutes les données de la littérature montrent que les formes solubles donnent des taux d'élimination généralement bien plus élevés (environ cinq fois) que les formes insolubles. Ce qui conduit à considérer que les formes solubles sont celles qui permettent l'absorption de plus grandes quantités d'aspirine durant les premières heures après l'administration.

Par contre, au bout de huit heures, une grande différence apparaît. Les salicylémies enregistrées après administration de formes solubles semblent décroître rapidement, ce que l'on constate sur certaines courbes.

CONCLUSIONS GENERALES

Notre but premier était, en effectuant ce travail, de montrer que le galéniste peut, en faisant jouer certains facteurs, modifier profondément l'absorption par l'organisme d'un principe actif donné.

C'est pourquoi, dans la première partie bibliographique, ont été étudiés les différents facteurs technologiques capables d'influencer l'absorption d'un médicament. Ces facteurs, au nombre de quatre, jouent un rôle considérable. Il s'agit de :

- La solubilité,
- Le degré et la rapidité de la dissolution,
- La taille des particules,
- La nature des excipients de la forme galénique.

La deuxième partie bibliographique consacrée aux moyens d'étude de l'influence de ces facteurs montre évidemment que les techniques in vivo sont plus riches d'enseignement que les techniques in vitro. Le dosage en continu des concentrations sanguines s'avère alors particulièrement intéressant.

Ces techniques exigent la connaissance du métabolisme du principe actif. Aussi, nous est-il apparu utile de consacrer une troisième partie à l'étude des données bibliographiques concernant le métabolisme de l'aspirine utilisée comme traceur pour nos essais.

Enfin, dans la quatrième partie sont exposés nos recherches personnelles relatives à l'absorption de l'aspirine pure en fonction de ses propriétés physiques et incorporée dans une forme galénique.

De l'ensemble de ces expériences, il est alors possible de tirer les conclusions suivantes :

1°/ La taille des particules influence profondément l'absorption :

- La rapidité de l'absorption semble inversement proportionnelle à la dimension des grains ;
- L'intensité de l'absorption semble proportionnelle à la granulométrie ;
- Une trop grande division risque de ralentir l'absorption par une mauvaise mouillabilité.

2°/ L'enrobage modifie l'absorption :

- Un enrobage par 10 % de matière grasse uniformise la vitesse et l'intensité à des valeurs moyennes (quelle que soit la taille des particules) ;
- Par contre, un enrobage par 40 % de matière grasse l'entrave de façon marquée ;
- La micro encapsulation n'influence pas la valeur de la salicylémie maximale mais accroît notablement le temps de son obtention.

3°/ La présentation sous forme soluble améliore l'absorption :

- Les valeurs des salicylémies maximales sont élevées ;
- Les temps de leur obtention sont très courts ;
- Mais les salicylémies maximales ne se maintiennent pas constantes et décroissent assez rapidement.

A la lecture de ces résultats, plusieurs possibilités s'offrent au formulateur qui veut mettre au point une forme galénique à base d'aspirine.

1. - S'il désire obtenir rapidement une salicylémie élevée :

Il aura intérêt à utiliser une forme soluble. La formulation va jouer ici un rôle très important : les excipients doivent être choisis avec soin, car nous l'avons vu, une légère modification de formulation s'accompagne de fortes différences d'absorption.

Il faut souligner que le bénéfice apporté par ces formes porte sur la rapidité et l'intensité de l'absorption, mais l'action est vraisemblablement fugace car la concentration sanguine décroît rapidement.

2. - Par contre, s'il désire une salicylémie prolongée, il lui faudra choisir de l'aspirine pure.

Cependant, il devra tenir compte des faits suivants :

- Les temps d'obtention des salicylémies maximales sont longs ;
- La valeur de la concentration sanguine est étroitement liée à la taille des particules ;
- Une division trop poussée entraîne une mauvaise mouillabilité se traduisant par une mauvaise absorption ;
- Enfin, l'aspirine possède une action irritante considérablement aggravée lorsqu'elle est en contact direct avec la muqueuse gastrique.

Pour éviter les phénomènes d'ulcérations, l'aspirine utilisée pourra être enrobée, ce qui l'isolera de la muqueuse gastrique. Mais, à nouveau, le formulateur ne devra pas oublier que :

- L'enrobage va exercer un effet sur l'absorption ;
- L'enrobage par 10 % de matière grasse est bénéfique car l'absorption se trouve alors régularisée ;
- Un enrobage trop important risque d'entraver l'absorption ;
- La micro encapsulation par de l'éthyl cellulose retarde sensiblement le temps au bout duquel la salicylémie maximale est atteinte. Par contre, sa valeur est élevée.

3. - Enfin, s'il souhaite une salicylémie importante obtenue immédiatement, son choix se limite à des formes intra-veineuses.

- Par cette voie, on limite les phénomènes d'ulcérations gastriques ;
- Le formulateur devra étudier soigneusement la composition du solvant, car le pouvoir tampon de ce dernier semble jouer un grand rôle dans la durée du séjour sanguin de l'aspirine ;
- De plus, il doit attirer l'attention de l'utilisateur sur la vitesse avec laquelle l'injection doit être réalisée.

L'ensemble des résultats de ce travail montre bien l'intérêt que présentent les essais in vivo sur la disponibilité physiologique du médicament.

Les essais in vitro ne peuvent apporter de précisions absolues sur le devenir d'un médicament dans l'organisme, mais peuvent expliquer parfois certaines anomalies observées chez l'animal.

Il est évident qu'une étude cinétique en continu est la plus riche en enseignements, certains phénomènes tels que le délai d'apparition du produit dans le sang et le moment exact où la concentration sanguine se stabilise ne pouvant être observés par une étude en discontinu.

Enfin, le choix de l'excipient et de la formulation doit obéir aujourd'hui non plus à de simples considérations techniques, mais doit s'accompagner de contrôles sévères in vitro, mais surtout in vivo. Car, comme l'a dit MIRIMANOFF (187) :

"Le temps n'est plus où un mélange de principes actifs choisis pour leur efficacité supposée pouvait être effectué dans le premier excipient venu".

Ceci nous conduit à penser que la biogalénique, science nouvelle, est une science pleine de promesses, à condition toutefois de respecter les limites de son domaine qui s'arrête là où celui du pharmacologue commence.

CLERMONT-FERRAND, le 29 juin 1971

VU

Le Président du Jury

P. Febvre

CLERMONT-FERRAND,

VU

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie

[Signature]



VU

Permis d'imprimer

Ph. 6/7I

Clermont-Ferrand, le 2 juillet 1971

Le Président,

J. Kohlmann



B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ABBOTT A.H.A., ALLPORT N.L.
Quart. J. Pharm. 1943, 16, 183
- 2 - ACKAD P.
Thèse Hambourg, 1964
- 3 - AIACHE J.M., CHEMINAT J.C.
Sem. Hop. Therap. 1967, 43, 169
- 4 - AIACHE J.M., FEBVRE P.
C.R. Symposium Technicon, France, 1970
- 5 - AIACHE J.M.
Conférence J.P.F. Paris, 1970
- 6 - ANDERSON K.W.
Arch. Int. Pharmacodyn. 1964, 147, 171.
- 7 - ANELLO J.A., LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 721.
- 8 - ARON E., DELBARRE B., JANKOWSI J.M.
Arch. Franç. des maladies de l'appareil digestif
1970, 59, 573.
- 9 - ATKINSON R.M., BEDFORD C.B., CHILD K.J., TOMICH E.G.
Antibiotics Chemoterap. 1962, 12, 232.
- 10 - ATKINSON R.M., BEDFORD C.B., CHILD E.G., TOMICH E.G.
Nature 1962, 193, 588.
- 11 - AUMONIER R.P.
Actualités Pharmaceutiques, 1970, 54, 4.

- 12 - BACKE-PANSEN K.
Arch. Pharm. Chem. 1957, 64, 219.
- 13 - BASTIDE P.
Ann. Biol. Clin. 1954, 10, 12.
- 14 - BARNERIAS J.M.
Bull. Soc. Pharm. de Marseille, 1968, 17, 225.
- 15 - BATES T.R., LAMBERT D.A., JOHNS W.H.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 1468.
- 16 - BATTERMAN R.C., GROSSMANN A.J.
Fed. Proc. 1956, 15, 398.
- 17 - BAUER G., RIEKMANN P., SCHAUFMANN W.
Arzneim. Forsch. 1962, 12, 487.
- 18 - BECKETT A.H., TUCKER G.T.
J. Mond. Pharm. 1967, 3, 181.
- 19 - BERENGER G.M.
Amer. J. Pharm. 1908, 80, 387.
- 20 - BERGMAN L.A.Q., BANDELIN F.J.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 3.
- 21 - BERRY H., BIRRIDOUT C.W.
J. Pharm. Pharmacol. 1950, 2, 619.
- 22 - BLAMPIN O.
Prod. Probl. Pharm. 1958, 13, 425.
- 23 - BLAMPIN O., LAURRE M., GARCET S.
C.R. Soc. Biol. 1963, 158, 631.
- 24 - BOWMAN W.C., BRAND M.J., WEST G.B.
Text-book of Pharmacology 1968, Blackwell Scientific
Publications Oxford.
- 25 - BOYD E.M., DINGWALL R.W.
Amer. J. Med. Sci. 1947, 213, 549.

- 26 - BRADLEY W.B., SCHNEDORF J.G., IVY A.C.
Amer. J. Dig. Dis. Nutr. 1936, 3, 415.
- 27 - BRIEN F.S.
Gastroenterology 1952, 20, 294.
- 28 - BRODIE B.B., BINNS T.B.
Absorption and distribution of drugs
Livingstone Publ. Edinburgh 1964.
- 29 - BUKEY F.S., BLIVEN C.W.
J. Pharm. Sci. 1936, 25, 119.
- 30 - CAHEN R.
C.R. des Séances de l'académie des sciences 1959, 248, 3064.
- 31 - S.A. CAPSUGEL
CH 4000 BALE - Feuille d'information.
- 32 - CHAVANTE J., BENTEJAC P.
C.R. Journées Pharmaceutiques 1958.
- 33 - CHAUDHRY N.C., SAUNDERS L.
J. Pharm. Pharmacol. 1956, 8, 975.
- 34 - COHEN Y.
Bull. d'Informations Scientifiques du C.E.A. 1970, n° 147.
- 35 - A.R. COOKE, J.N. HUNT
Digestive Diseases 1970, 15, n° 2, 95.
- 36 - COTTE J.
Labo Pharma 1970, n° 187, 55, 188.
- 37 - COTTY V.E.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 868.
- 38 - COTTY V.E., EDERMA H.M.
J. Pharm. Sci. 1966, 55, 837.
- 39 - COUSTOU F.
Labo Pharma 1970, n° 194, 80.

- 40 - CRABTREE E.R., DATA B.J., CHRISTIAN J.E.
J. Pharm. Sci. 1958, 47, 602.
- 41 - CRAMPTON R.F., MATTHEWS D.M.
In : Absorption and Distribution of Drugs 1964
Levingstone Ed. Edimbourg.
- 42 - CROUNSE R.G.
J. Invest. Dermat. 1961, 37, 529.
- 43 - CUCINEL A., PERL W.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1423.
- 44 - CUMMING A.J., MARTIN B.K.
J. Biol. Chemot. 1964, 13, 767.
- 45 - CUMMINGS J.A., MARTIN B.K., PARK G.S.
Br. J. Pharmac. Chemoter. 1967, 29, 136.
- 46 - CUMMINGS J.A., KINGS M.L., MARTIN B.K.
Br. J. Pharmacol. Chemoter. 1967, 29, 150.
- 47 - CZETSCH, LINDENWALD H.V.
Pharm. Ind. 1962, 24, 110
- 48 - CZETSCH, LINDENWALD H.V., TAWAASHI
Pharm. Ind. 1965, 27, 146.
- 49 - DARDALHON F.
Colloque Pharmaceutique International Montpellier Mai 1970.
- 50 - DELACOUX E., PAGNIEZ M., GOUSSON Th., CESBRON N.
Therapie 1970, 25, 553.
- 51 - DELBARRE F., TIFFENEAU J.M., BROUILHET H., DELASSUE H.
Sem. Hop. Therap. 1965, 10, 578.
- 52 - DELFS F.M., KUHNE J.
Arzneim Forsch 1963, 13, 304.
- 53 - DEL POZO A., CEMELI J.
Gal. Acta 1954, 7, 137.

- 54 - DEL POZO A.
Conf. Cercle Gilkinet 1967.
- 55 - DE LUCA P.P., KOSTENBAUDER H.B.
J. Pharm. Sci. 1960, 49, 430.
- 56 - DU PALMA J.R.
Drill's Pharmacology in medicine Mc Graw-Hill, Brook Company 1965.
- 57 - DOLINSIO, SWINTOWSKY
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 597.
- 58 - DIAMOND, DOLUISIO J.T., CROUTHAMEL W.G.
European Journal of Pharmacology 1970, 11, 109.
- 59 - DOLIQUE R.
J. Pharm. Belg. 1960, 15, 229.
- 60 - DOST M.
Der Blutspiegel Thieme-Verlag Leipzig
- 61 - DOUHAIRIE B.
Colloque Pharmaceutique International Montpellier mai 1970.
- 62 - DUNCAN W.A.M., Mc DONALD G., THORNTON M.J.
J. Pharm. Pharmacol. 1962, 14, 217.
- 63 - ECKERT T.
Arzneim Forsch 1967, 5, 328.
- 64 - ENEZIAN G.M.
Prod. Prob. Pharm. 1968, 23, 185.
- 65 - ENGEL R.H., RIGGI S.J.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 706.
- 66 - EURAND s.p.a. Milan
Notice technique Microcap. Process.
- 67 - EURAND s.p.a. Milan
Notice technique The diffucaps methode.

- 68 - EURAND s.p.a. Milan
Notice technique Microencapsulation application.
- 69 - EURAND s.p.a. Milan
Notice technique Microencapsulation of pharmaceutical and related
matériaux.
- 70 - EVERT C.F., RANDALL M.J.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 403.
- 71 - FARADIEH B., BORODKIN S., BUDDENHAGEN J.D.
J. Pharm. Sci. 1971, 60, 2, 209.
- 72 - FEBVRE P., DENJEAN Ch., COUDERT R.
Ann. Pharm. Franç. 1961, 19, 442.
- 73 - FEBVRE P., ROBELET M.A.
Ann. Pharm. Franç. 1963, 21, 759.
- 74 - FEBVRE P., GISCLOND D.
Thérapie 1966, 21, 1599.
- 75 - FEBVRE P., AIACHE J.M., BEX J.F.
C.R. Soc. Biol. 1969, 164, 1160.
- 76 - FEBVRE P., AIACHE J.M., JABOT P.
Labo Pharma 1970, 186, 69.
- 77 - FEBVRE P., AIACHE J.M., JABOT P., ARMOIRY P.
C.R. Soc. Biol. 1970, sous presse.
- 78 - FEINBLATT T.M., FERBUSON E.A.
J. Med. 1956, 254, 940.
- 79 - FINCHER J.H.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 1825.
- 80 - FINHOLT P., SOLVANG S.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 1322.
- 81 - FIROUZABADIA N.A., HUYCK C.L.
J. Pharm. Sci. 1954, 43, 248.

- 82 - FONTAINE L.
Bull. Tech. Gattefossé 1965, 2, 51.
- 83 - FOUSSARD-BLAMPIN O.
C.R. Symposium Technicon France 1964.
- 84 - FOUSSARD-BLAMPIN O.
Rev. Med. Tours 1965, 6, 323.
- 85 - FREED C., KEATING B.S., HAYS Ph. D.
Ann. Int. Med. 1956, 44, 1136.
- 86 - FUCHS P., SCHOTTKY E., SCHENCK G.
Die Pharmazeutische Industrie 1970, 32, n° 7.
- 87 - FUCHS B., INGELFINGER F.J.
Gastroenterology 1954, 27, 802.
- 88 - GALLI M.
Journées d'Information Technicon sur les Analyses automatiques
- 89 - GANTT C.L., GOCHMAN N., DYNIEWICZ J.M.
Lancet 1961, 1, 487.
- 90 - GARRETT E.R., JOHNSTON R.L., COLLINS E.J.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 7, 668.
- 91 - GIBALDI M., FELDMANN S.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 1477.
- 92 - GIBALDI M., FELDMANN S.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 579.
- 93 - GIBALDI M., WEINTRAUB H.
J. Pharm. Sci. 1971, 60, 624.
- 94 - GISCLOND D.
Thèse Pharmacie Clermont-Ferrand 1965.
- 95 - GLASSON B.
Exposés annuels de Biochimie Médicale
Série 15, 1953, Masson Ed.
- 96 - GOLDBERG A.H., GIBALDI M., KANIG J.L.
J. Pharm. Sc. 1965, 54, 1145.

- 97 - GOLDBERG A.H., CIBALDI M., KANIG J.L.
J. Pharm. Sc. 1966, 55, 482.
- 98 - GOODMAN L.S., GILMAN A.
The pharmacological basis of therapeutic
Mac Millan Cy New York 1963.
- 99 - GORDON H.M.
Austral Vet J. 1956, 32, 258.
- 100 - GROSS M., GREENSBERG L.A.
The salicylates Hillhose Press Haven, Convecticut 1948.
- 101 - HAMBURGER C., PEDERSEN, BJERGAARD K.
Arch. Pharm. Chem. 1961, 68, 146.
- 102 - FARRIS P.A., RIÉGELMAN S.
J. Pharm. Sci. 1967, 56, 713.
- 103 - HENNIG W.
Über die rektale resorption von medikamenter. Juris Verlag Zurich 1959.
- 104 - HIGUCHI T., ELOWE L.N., BUSSE L.W.
J. Pharm. Sci. 1954, 434, 685.
- 105 - HIGUCHI W.I., LAU P.K., HIGUCHI T., SHELL J.W.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 150.
- 106 - HIGUCHI T.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 1145.
- 107 - HOFFMAN A., HOFFMAN A.M., MEUNIER A.
Bull. Soc. Phie de nancy 1968, 78, 7.
- 108 - HOGBEN C.A., SHANKER L.S., TOCCO D.J., BPODIE B.B.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 1957, 120, 540.
- 109 - HOLLISTER L., LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1126.
- 110 - IDA T., TAKAHASHI S., NODA K., KISHI S., NAKAGAMI S., UTZUMI I.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 472.

- 111 - JACK D.
Pharmaceutical J. 1962, 30 juin, 581.
- 112 - JAMINET F.
J. Pharm. Belg. 1963, 45, 227.
- 113 - JAMINET F.
J. Pharm. Belg. 1964, 19, 144.
- 114 - JAMINET F.
Coll. Pharm. Industrielle de Gand 1965, 47.
- 115 - JAMINET F., DELATTRE L., GODFRIAUX G.
J. Pharm. Belg. 1967, 22, 95.
- 116 - JAMINET F.
Pharm. Acta Helv. 1968, 43, 129.
- 117 - JAMINET F.
Colloque Pharmaceutique International MONTPELLIER 1970.
- 118 - JEANNIN C., MOREL C., VERAIN A.
J. Pharm. Belg. 1970, 6, 529.
- 119 - JUNCHER H., RAASCHOU F.
Antibiotic Med. Clin. Therap. 1957, 4, 497.
- 120 - KAKEMI K., ARITA T., KOISUMI T.
Yakugaku Zasshi 1962, 82, 261.
- 121 - KAKEMI K., ARITA T., OHASHI S.
Yakugaky Zasshi 1962, 82, 1468.
- 122 - KAKEMI K., ARITA T., MURANISHI S.
Chem. Pharm. Bull. 1965, 13, 976.
- 123 - KATCHEN B., SYMCHOWICZ S.
J. Pharm. Sci. 1967, 56, 1108.
- 124 - KABASAKALIAN B., KATZ M., ROSENKRANZ B., TOWNLEY
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 595.
- 125 - KELLNER A., CORREL J.W., LADD A.T.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948, 67, 25.

- 126 - KORDA P.
Colloque Pharmaceutique International Montpellier mai 1970.
- 127 - KOSLIK V., MOSINGER B.
Pharmazie 1956, 11, 22.
- 128 - KRAUSE D.
Arzneim Forsch. 1955, 5, 428.
- 129 - KRAML M., DUBUC J., GAUDRY R.
Antibiotics Chemotherap. 1962, 12, 239.
- 130 - KRAML M., DUBUC J., DVORNIK D.
Arch. Dermatol. 1963, 87, 179.
- 131 - KUHNE J.
Thèse Brunswick 1960.
- 132 - KWAN C.K., SWART F.O., MATTOCKS A.M.
J. Pharm. Sci. 1957, 46, 236.
- 133 - KWAN K.C.
J. Pharm. Sci. 1966, 55.
- 134 - LACHMAN
Current Therap. Res. 1964, 49, 6.
- 135 - LAFONTAINE A.
A.P.B. Service documentation 1970, fascicule 98.
- 136 - LAPP C.
Ann. Biol. Clin. 1952, 10, 373.
- 137 - LAPP C.
Congrès A.F.A.S. Poitiers juillet 1954.
- 138 - LEAN
La Presse Médicale 1963, 71, 1969.
- 139 - LEONARDS J.R.
Proc. Soc. Exp. Biol. 1962, 110, 304.

- 140 - LEONARDS J.R.
Clin. Pharm. Therap. 1963, 4, 476.
- 141 - LEONARDS R., LEVY G.
Jama 1965, 193, 93.
- 142 - LESTER D., LOLLI G., GREENBERG L.A.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 1946, 87, 329.
- 143 - LEVY G., HAYES B.A.
New Engl. J. Med. 1960, 262, 1053.
- 144 - LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1961, 50, 388.
- 145 - LEVY G., KNOX F.G.
Amer. J. Pharm. 1961, 133, 255.
- 146 - LEVY G., NELSON E.J.
N.Y. State J. Med. 1961, 61, 23.
- 147 - LEVY G., GUMTOW R.H., RUTOWSKI J.M.
Canad. M.A.J. 1961, 85, 414.
- 148 - LEVY G., SAHLI B.A.
J. Pharm. Sci. 1962, 51, 58.
- 149 - LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1962, 51, 587.
- 150 - LEVY G.
Salicylates an International Symposium 1963, CHURCHILL London.
- 151 - LEVY G., TANSKY W.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 679.
- 152 - LEVY G., CAGLIARI B.A.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 730.
- 153 - LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 1039.
- 154 - LEVY G., ANTROWIK J.M., PROCKNAL J.A., WHITE D.C.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 1047.

- 155 - LEVY G., GUMTOW R.E.
J. Pharm. Sc 1963, 52, 1139.
- 156 - LEVY G.
In "SPROWLS" Prescription Pharmacy 1963, 31.
- 157 - LEVY G.
Amer. J. Pharm. 1963, mars, 78.
- 158 - LEVY G.
Arch. Int. Pharmacodyn. 1964, 152, 59.
- 159 - LEVY G., PROCKNAL J.A.
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 656.
- 160 - LEVY G., MILLER K.E.
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 1301.
- 161 - LEVY G., HOLLISTER L.E.
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 1446.
- 162 - LEVY G., REUNIG R.H.
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 1471.
- 163 - LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 7.
- 164 - LEVY G.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 959.
- 165 - LEVY G., JUSKO W.J.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 219.
- 166 - LEVY G., HOLLISTER L.E.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1121.
- 167 - LEVY G., LEONARDS J.R., PROCKNAL J.A.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1719.
- 168 - LEVY G.
Clin. Pharmacol. Therap. 1966, 7, 362.
- 169 - LEVY G., MILLER K.E., REUNIG R.H.
J. Pharm. Sci. 1966, 55, 399.

- 170 - LEVY G.
J. Mond. Pharmacie 1967, 3, 237.
- 171 - LEVY G., ANELLO J.A.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 101.
- 172 - LEVY G., ANELLO J.A.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 494.
- 173 - LEVY G., PERALA A.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 874.
- 174 - LISH P.M.
Gastro Enterology 1961, 41, 580.
- 175 - LUZZI L.A., ZOGLIO M.A., MAULDING H.V.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 338.
- 176 - LUZZI L.A.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1367.
- 177 - LOLLI G., SMITH R.
New Engl. J. Med. 1946, 235, 80.
- 178 - LOO J.C.K., RIEGELMAN S.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 918.
- 179 - LOZINSKI E., DIVER G.R.
J. Pharm. Sci. 1933, 22, 143.
- 180 - McBEE B.J., WALKER G.C.
J. Pharm. Sc. 1970, 59, 1430.
- 181 - MARTIN B.K.
Absorption and Distribution of drug 1964, 167.
- 182 - MATSUMOTO H.
Yakugaku Zasshi 1966, 86, 590.
- 183 - MARVED J.R., SCHLICHTING D.A., DENTON C., LEVY E.J., CAHN N.M.
J. Invest. Dermatol. 1964, 42, 197.
- 184 - MAYERSOHN M., GIBALDI M.
J. Pharm. Sc. 1966, 55, 1323.

- 185 - MAYERSOHN M., FEEDMAN S., GIBALDI M.
J. Nutr. 1969, 98, 288.
- 186 - MINICONI H.
France Pharmacie 1967, 1, 7.
- 187 - MIRIMANOFF A.
Conf. Cercle Gilkinet.
- 188 - MOORE W.E., PORTMANN G.A., STANDER H., CHESNY Mc.
J. Pharm. Sc. 1965, 54, 36.
- 189 - MORRIS C.H., CHRISTIAN J.E., MIYA T.S., HANSEN W.G.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 325.
- 190 - MUELLER F.W., LIEBERMAN S.V.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 515.
- 191 - MUELLEY B.A.
In advances in Pharmaceutical Sciences 1964, 1, 87.
- 192 - MUNZEL V.K.
J. Mond. Pharm. 1967, 10, 255.
- 193 - NECHELES H., SPORN J.
Amer. J. Gastroenterology 1966, 46, 481.
- 194 - NELSON E., SCHALDEMOSE I.
J. Pharm. Sc. 1961, 50, 388.
- 195 - NELSON E.
J. Pharm. Sci. 1959, 48, 96.
- 196 - NELSON E.
Clin. Pharmacol. Therap. 1962, 3, 673.
- 197 - NELSON E., KNOECHEL E.L., HAMLIN W.E., WAGNER J.G.
J. Pharm. Sci. 1962, 51, 509.
- 198 - NEUWALD F., KUHNE J., SOEHRING K.
Pharm. Ztg. 1961, 106, 1544.
- 199 - NEUWALD F., KUHNE J., SOEHRING K.
Oster Apoth. Ztg. 1962, 16, 227.

- 200 - NEUWALD F., KUNZE F.
Arzneim Forsch 1964, 14, 1029.
- 201 - NEUWALD F., KUNZE F.
Arzneim. Forsch. 1964, 14, 1162.
- 202 - NISSIM J.A.
Nature, 1960, 187, 305.
- 203 - NOGAMI H., FUKUZAWA H., NAKAI Y.
Chem. Pharm. Bull. 1963, 11, 1389.
- 204 - NOYES A.A., WHITNEY W.R.
J. Amer. Chem. Soc. 1897, 19, 930.
- 205 - O'GALLAGHAN C.H., TOOTILL J.P.P., ROBINSON W.D.
J. Pharm. Pharmacol. 1971, 23, 50.
- 206 - OKUDA K., DURAN E.V., CHOW B.F.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1960, 103, 588.
- 207 - PATEL N.P., HOPPONEN L.E.
J. Pharm. Sci. 1965, 55.
- 208 - PAUL W.D., DRYER R.L., ROUTH J.
J. Pharm. Sci. 1950, 39, 21.
- 209 - PEQUERIAU J., MOTIN J., ROUZIUX J.M.
L'intoxication salicylée. Coll. Med. Légale et tox. Médicale 1970,
Masson Ed.
- 210 - PERRIN
J. Pharm. Pharmacol. 1967, 19, 25.
- 211 - PICCINI F., ANCONA A.
Boll. Chim. Pharm. 1959, 98, 104.
- 212 - PRESCOTT L.F., FERRIER W.R.
Clinical Pharmacology and Therapeutics 1970, 11, 496.
- 213 - PUECH A., SEFRANO J.J., SEFRANO C.
J. Pharm. Belg. 1968, 23, 445.

- 214 - PUECH A., SERRANO J.J.
J. Pharm. Belg. 1970, 27, 299.
- 215 - PUTTER J., BAUER K.
Arzneim. Forsch. 1970, 11, 1718.
- 216 - REINHOLD J.G., PHILLIPS F.J., FLIPPIN M.F.
Amer. J. Med. Sci. 1945, 210, 141.
- 217 - RIEGELMANN S., CROWELL W.J.
J. Pharm. Sci. 1958, 47, 115.
- 218 - ROBERTSON J.S., BODE O.
J. Pharmacol. 1970, 22, 423.
- 219 - RODRIGUES MORGADO S.
Revista Portuguesa de Farmacia 1969, 19, 174.
- 220 - ROLAND M.
J. Pharm. Belg. 1967, 22, 67.
- 221 - ROLAND M.
J. Pharm. Belg. 1970, 6, 439.
- 222 - ROWE E.L., MOROZOWICH W.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 1375.
- 223 - ROWLAND M., RIEGELMAN S.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 1313.
- 224 - ROWLAND M., BENNET L.S., RIEGELMAN S.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 364.
- 225 - ROWLEY G., NEWTON J.M.
J. Pharm. Sci. 1970, 22, 966.
- 226 - RUIVO Maria Luisa, DA GRACA FARIA Maria
Revista Portuguesa de Farmacia 1969, 19, 4, 161.
- 227 - SALAZA R.B., ARANGUIZ T., VARGAS L.
Arch. Pharm. 1965, 298, 45.
- 228 - SALAZA R.B.
Arch. Pharm. 1965, 298, 45.

- 229 - SAMELIUS U., ASTROM A.
Acta Pharmacol. Toxicol. 1958, 14, 140.
- 230 - SANDELL E.
Acta Pharm. Suecica 1970, 7, 55.
- 231 - SASKI W.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 836.
- 232 - SHANKER L.S., SHORE P.A., BRODIE B.B., MOGBEN C.A.M.
J. Pharm. Exp. Therap. 1957, 120, 258.
- 233 - SCHEFTER E., HIGUCHI T.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 781.
- 234 - SCHNEDORF J.G., BRADLEY W.B., IVY A.C.
Ame. J. Digest Dis. 1936, 3, 239.
- 235 - SCHROETER L.C., TINGSTAD J.E., KNOCHER E.L., WAGNER J.G.
J. Pharm. Sci. 1962, 5, 865.
- 236 - SEKIGUCHI K., OBI N.
Chem. Pharm. Bull. 1961, 9, 866.
- 237 - SEKIGUCHI K., OBI N., VEDA Y.
Chem. Pharm. Bull. 1964, 12, 134.
- 238 - SERRANO J.J.
Thèse Pharmacie Montpellier 1969.
- 239 - SHIBA M., TOMIOKA S., KOISPI M., KONDO T.
Chem. Pharm. Bull. 1970, 18, 803.
- 240 - SIMON M.
Ann. Allergy 1959, 17, 50.
- 241 - SJOGREN J., SOLVELL L., KARLSSON I.
Acta Med. Scand. 1965, 178, 553.
- 242 - SJOGREN J.
J. Mond. Pharm. 1967, 3, 332.

- 243 - SLEIGHT P.
Lancet 1960, 1, 305.
- 244 - SMITH P.K., GIEASON H.L., STOLL C.G., OGORZALEK L.S.
J. Pharmacol. Exp. Therap. 1946, 87, 237.
- 245 - SMITH P.K.
Pharmacol. Pev. 1949, 1, 353.
- 246 - STEIGER-TRIPPI K.
Gal. Acta 1962, 15, 263.
- 247 - STEINBERG W.H.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 5.
- 248 - STELLAN L., GUNLOG O.
Acta Pharm. Suecica 1970, 7, 449.
- 249 - STUETTGEN G., MOELLENBECK A.
Arzneim Forsch 1960, 10, 202.
- 250 - SUZUKI M., MOTOYOSHI K., ARAI H., HORIKAWA H.
Jap. J. Pharmacol.
- 251 - SWARBRICK J.
J. Pharm. Sci. 1965, 54, 1229.
- 252 - TANAKA N., TAKINO S., UTSUMI I.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 664.
- 253 - TAYLOR C.B.
J. Physiol. 1963, 165, 199.
- 254 - TEORELL T.
Arch. Int. Pharmacol. Therap. 1937, 57, 207.
- 255 - TEORELL T.
Arch. Int. Pharmacol. Therap. 1937, 57, 226.
- 256 - THOMAS R.L., ELLIOT D.C.
New Zealand Vet. J. 1957, 5, 66.

- 257 - TRUITT E.B., MORGAN A.M.
Fed. Proc. 1959, 18, 453.
- 258 - TRUITT E.B., MORGAN A.M.
Tox. Appli. Pharmacol. 1960, 2, 237.
- 259 - TRUITT E.B., MORGAN A.M.
Arch. Int. Pharmacodynamie 1962, 135, 105.
- 260 - TRUITT E.B., MORGAN A.M.
J. Pharm. Sci. 1964, 53, 129.
- 261 - TUBIANA M.
Les Isotopes Radio Actifs en médecine et biologie
1950, Masson Ed.
- 262 - VIGNALOU J., BECK H.
Thérapie 1967, 22, 967.
- 263 - VIGNON G., FALCONNET M., MEUNIER P.
Cahiers Médicaux Lyonnais, 1967, 43, 1127.
- 264 - VICTOR DE SABATA M.D.
Conf. du Musée de la Science et de la Technique
25 septembre 1969, Milan.
- 265 - WAGNER J.G., VELDKAP W., LONG S.
J. Pharm. Sci. 1958, 47, 681.
- 266 - WAGNER J.G., NORTHAM J.I.
J. Pharm. Sci. 1967, 56, 529.
- 267 - WAGNER J.G.
J. Pharm. Sci. 1961, 50, 359.
- 268 - WAGNER J.G.
J. Pharm. Sci. 1967, 56, 652.
- 269 - WAGNER J.G.
Amer. Rev. Of Pharmacol. 1968, 8, 67.

- 270 - WAGNER J.G., NORTHAM J.I.
J. Pharm. Sci. 1968, 57, 994.
- 271 - WAGNER J.G., METZLER C.M.
J. Pharm. Sci. 1969, 58, 87.
- 272 - WAGNER J.G.
Drug Intelligence Clin. Pharm. 1970, 4, 190.
- 273 - WAGNER J.G.
J. Pharm. Sci. 1970, 59, 1049.
- 274 - WARD J.B., TRACHTENBERG
Drug Cosm. Ind. 1962, 91, 35.
- 275 - WIEGAND R.G., BUDDENHAGEN J.D., ENDICOTT C.J.
J. Pharm. Sci. 1963, 52, 268.
- 276 - WEILER H.
Thèse Mayence 1956.
- 277 - WILLIAM R.T.
Clin. Pharm. Therap. 1963, 4, 234.
- 278 - ZAHARIA N.
Ann. Pharm. Franç. 1966, 24, 275.

